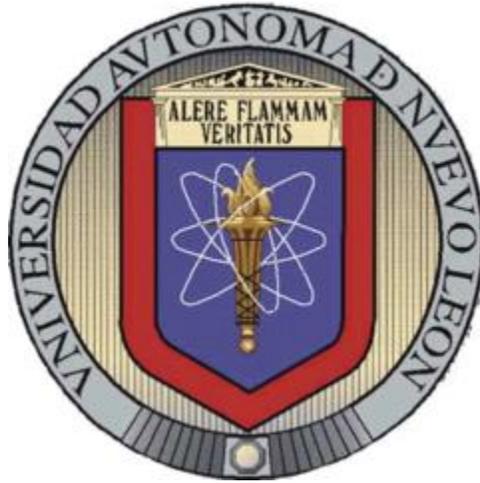


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN FISIOLÓGICA Y DE COMPUESTOS BIOACTIVOS  
EN MAÍCES NATIVOS ANTE ESTRÉS DE TEMPERATURA Y  
SEQUÍA**

**PRESENTA**

**CESAR DE JESUS AYALA MEZA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**Escobedo, N. L.**

**Agosto 2020**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN FISIOLÓGICA Y DE COMPUESTOS BIOACTIVOS  
EN MAÍCES NATIVOS ANTE ESTRÉS DE TEMPERATURA Y  
SEQUÍA**

**PRESENTA**

**CESAR DE JESUS AYALA MEZA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**Escobedo, N. L.**

**Agosto 2020**

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR



---

Ph. D. Francisco Zavala García

Director



---

Dra. Adriana Gutiérrez Díez

Co-Asesor



---

Dr. Guillermo Niño Medina

Co-Asesor



---

Dra. Sugey Ramona Sinagawa García

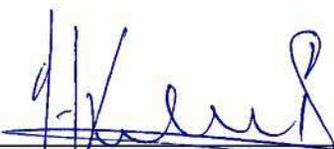
Co-Asesor



---

M.C. Eduardo Alejandro García Zambrano

Co-Asesor



---

Ph. D. Juan Antonio Vidales Contreras

Subdirector de estudios de posgrado e investigación

## **Dedicatoria**

Dedico esta tesis a mis padres, **Lorena Meza Ibarra** y **Cesar Ayala López**, quienes siempre me han apoyado en mis proyectos con sus palabras de aliento.

A mis hermanos, **Diana Ayala**, **Ruth Ayala** y **Akira Shibuya**, quienes, aunque a veces tengamos conflictos, sé que siempre podre tener un pilar con ellos.

A mi sobrino **Harvey Kai Shibuya**, no llegaste en el mejor momento del mundo, pero si el mejor para la familia, trabajare para hacerte un mejor mañana.

A todos mis amigos. Estemos cerca o lejos, siempre estamos juntos.

A todas las personas que, aunque haya sido conocernos por unos minutos, siempre es bonito y alentador conocer otras formas de existir, gracias por compartirme eso.

## **Agradecimientos**

A mi familia, la cual no solo es de sangre, especialmente a **Arturo, Diana, Jorge, Montserrat, Octavio, Rodolfo, Moisés, Christian, Lilian, Marisol, Maricela** y todas las personas que marcaron mis experiencias a lo largo de estos dos años.

A mi Director de Tesis **Ph. D. Francisco Zavala García**, quien confió en mis ideas por más poco ortodoxas que fueran, guiándome por el camino de la investigación, así como brindándome su amistad.

A mis compañeros y amigos de la Facultad de Agronomía **Javier, Israel, Efrén, Alejandra**, y al personal en general, quienes siempre estuvieron dispuestos a apoyar en lo que se necesitara.

Un especial agradecimiento a los doctores **Romeo Rojas, Christian Martínez, Beatriz Rodríguez, Juanita Aranda**, y al maestro **Gilberto González**, quienes aun sin ser parte de mi comité me apoyaron y guiaron a lo largo de mis estudios de maestría.

Al personal de CIMMYT, entre ellos la **Dra. Natalia Palacios** y su equipo de trabajo, así como al Dr. **Cesar Petroli**, quienes me apoyaron y guiaron en los proyectos desarrollados a lo largo de mi formación.

A todas las personas que conocí y no conocí durante esos dos años, a quienes conocí por sus enseñanzas, a quienes no conocí en persona por todas sus anécdotas, que, aunque no fueran de viva voz, llegaron a hacer la diferencia.

Al universo.

## INDICE

ÍNDICE DE CUADROS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE .....	ix
RESUMEN .....	11
SUMMARY .....	13
1. INTRODUCCIÓN .....	15
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	19
2.1. Maíz .....	19
2.1.1. Origen y distribución .....	19
2.1.2. Descripción botánica.....	20
2.1.3. Requerimientos agroecológicos del maíz .....	21
2.1.4. Etapas fenológicas.....	21
2.1.5. Adaptación .....	22
2.2. Metabolismo secundario .....	23
2.2.1. Compuestos fenólicos.....	23
2.2.2. Pigmentos .....	26
2.2.2.1 Flavonoides .....	26
2.2.2.2. Antocianinas .....	26
2.2.2.3. Carotenoides .....	30
2.3 Afecciones por estrés abiótico .....	31
2.3.1 Efectos en el metabolismo primario .....	32
2.3.2 Efectos en el metabolismo secundario .....	32
2.4 Determinaciones fisiológicas.....	33
2.4.1 Determinación de conductancia estomática. ....	34
2.4.2 Determinación de fotosíntesis por intercambio gaseoso.....	34
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	36

3.1. Objetivo 1.....	36
3.1.1. Siembra experimental.....	36
3.1.2. Toma de datos fenotípicos y ambientales.....	39
3.2 Objetivo 2.....	40
3.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en tejido foliar ....	40
3.2.2. Extracción y cuantificación de antocianinas en tejido foliar .....	41
3.2.3. Cuantificación de antocianinas en grano mediante HPLC .....	41
3.2.5. Extracción y cuantificación de carotenoides en grano mediante UPLC	43
3.3. Objetivo 3.....	44
3.3.1. Siembra controlada.....	44
3.3.2. Toma de datos fenotípicos y fisiológicos .....	47
3.3.1 Determinación de compuestos bioactivos.....	49
3.4. Análisis estadístico .....	52
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
4.1. Objetivo 1.....	53
4.1.1. Unidades Calor .....	53
4.1.2 toma de datos fenotípicos.....	54
4.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos en tejido foliar ..	62
4.2.3. cuantificación de antocianinas en grano mediante HPLC.....	71
4.3. Objetivo 3.....	74
4.3.1. Siembra controlada.....	74
4.3.2. toma de datos fenotípicos y fisiológicos.....	75
3.2 Evaluación fisiológica del experimento de sequía y altas temperaturas ...	79
4.3.3. Determinación de compuestos bioactivos.....	86
4.3.4. Evaluación de compuestos bioactivos del experimento postantesis con tratamiento de temperatura.....	91
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	95
5.1. Conclusiones.....	95
5.2. Recomendaciones .....	96
6. BIBLIOGRAFÍA.....	98
7. CUADRO DEL APÉNDICE.....	108

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción taxonómica <i>del</i> maíz.....	21
Cuadro 2. Comparación por literatura de los diferentes metabolitos secundarios de interés.....	25
Cuadro 3. Listado de genotipos presentes en el Experimento 1 con su localidad de origen y altitud.....	38
Cuadro 4. Listado de genotipos presentes en el Experimento 2 con su localidad de origen y altitud.....	39
Cuadro 5. Listado de genotipos presentes en el Experimento 3 con su localidad de origen y altitud.....	39
Cuadro 6. Representación de los tratamientos y sus variables obtenidas.....	46
Cuadro 7. Unidades calor (GDD) para cada genotipo en etapa antesis y postantesis entre las fechas de 3 de Marzo de 2019 al 30 de Junio de 2019.....	54
Cuadro 8. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, y el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 1.....	56
Cuadro 9. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, así como el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 2.....	57
Cuadro 10. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, así como el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 3.....	58
Cuadro 11. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 1, maíces foráneos a Nuevo León.....	65
Cuadro 12. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 2, maíces mejorados.....	69
Cuadro 13. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 3, maíces nativos de Nuevo León.....	70
Cuadro 14. Coeficientes de correlación entre los compuestos fenólicos y GDD....	72

Cuadro 15. Comparación de medias para las diferentes variables evaluadas de los componentes bioactivos en grano del Experimento 1, enfocándose en las variables Cianidin-3-Glucosido, Pelargonidin-3-Glucosido, Luteína, Zeaxantina y el complejo Provitamina A.....	74
Cuadro 16. Porcentaje de humedad presente durante el estrés por sequía en el experimento de macetas controladas.....	75
Cuadro 17. Condiciones de temperatura añadida por el tratamiento de la cámara de solarización controlada. ....	76
Cuadro 18. Comparación de medias para los genotipos.....	77
Cuadro 19. Comparación de medias para el factor de humedad.....	78
Cuadro 20. Medias de la interacción temperatura por ambiente.....	80
Cuadro 21. Comparación de medias para la interacción de temperatura por humedad determinados por el porómetro de estado constante.....	80
Cuadro 22. Comparación de medias presentadas para conductancia estomática en los tratamientos de temperatura.....	82
Cuadro 23. Comparación de medias presentadas en la variable de daño a fotosistema bajo el tratamiento de riego y sequía.....	83
Cuadro 24. Interacción de genotipo por humedad con las medias para tasa fotosintética.....	85
Cuadro 25. Medias con diferencia significativa para las interacciones entre temperatura y humedad.....	86
Cuadro 26. Comparación de medias en la cuantificación por el método ABTS <sup>•+</sup> para los tratamientos de calor inducido y temperatura ambiente.....	91
Cuadro 27. Comparación de medias en la cuantificación por el método ABTS <sup>•+</sup> para los tratamientos de riego y sequía.....	91
Cuadro 28. Comparación de medias para las pruebas de Folin-Ciocalteu, DPPH <sup>•</sup> y ABTS <sup>•+</sup> para los tratamientos de calor inducido y ambiente.....	93
Cuadro 29. Cuadro de correlaciones entre las variables determinadas para los tratamientos de riego y sequía.....	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los diversos flavonoides presentes en plantas.....	27
Figura 2. Estructura genérica de las antocianidinas.....	28
Figura 3. Diferentes tipos de antocianinas (Pelargonidina, Cianidina, delphinidina, Peonidina, Petunidina, malvinidina) según sus radicales (Hidrogeno, Hidróxido o Metoxilo).....	28
Figura 4. Comparación de Cianidina 3-O-Glucósido (C3G) y Peonidina 3-O-Glucósido (P3G) donde se observa la diferenciación de tonalidad presente .....	29
Figura 5. Estructuras de los principales carotenoides, observándose los carotenos, luteína, zeaxantina, y $\beta$ -criptoxantina. ....	31
Figura 6. Representación en 3D donde se observan los tratamientos de riego y sequía, así como de temperatura ambiente y calor inducido. ....	46
Figura 7. Película plástica sobre la parte superior del suelo en la maceta con la finalidad de disminuir las pérdidas por evaporación de agua. ....	46
Figura 8. Tratamiento con cámara de solarización controlada para aplicar los tratamientos de estrés por temperatura. Se registraron las temperaturas dentro y fuera de la cámara durante el tratamiento.....	47
Figura 9. Sistema de medición de fotosíntesis Li-6400 con cámara de luz LED modelo 6400-02 por Li-Cor, Nebraska, EE. UU. ....	49
Figura 10. Toma de muestra de tejido foliar almacenada en bolsas de aluminio para su transporte en hielera con dióxido de carbono en estado sólido (hielo seco). ...	50
Figura 11. Variables de altura en los genotipos del experimento 1, donde se plasman en azul los valores para altura de planta (Alt) y en naranja los valores de altura de mazorca (AltMaz). ....	58
Figura 12. Variables de días a floración en los genotipos del experimento 1 donde se plasman en azul los días a floración femenina (DFF) mientras que en naranja los días a floración masculina (DFM).....	59
Figura 13. Variable de peso de mazorca para los genotipos del Experimento 1, donde se plasma en azul los valores para el peso de mazorca (PMaz).....	60
Figura 14. Representación gráfica de los resultados obtenidos para compuestos fenólicos en hoja en etapa antesis y postantesis. ....	65
Figura 15. Representaciones graficas de los DFF (Días a floración femenina) y DFM (Días a floración masculina) entre riego y sequía. ....	78

Figura 16. Transpiración y concentración de CO <sub>2</sub> presente en la interacción entre el estrés de sequía y altas temperaturas. ....	80
Figura 18. Análisis de regresión entre fotosíntesis (Photo) y concentración de CO <sub>2</sub> intracelular (Ci) (Coeficiente de correlación $r = -0.90$ ).....	86
Figura 19. Cuantificación de compuestos fenólicos totales por Folin Ciocalteu (CFT, color naranja) y de capacidad inhibitoria de radicales por el método de DPPH <sup>•</sup> (CIdRDPPH <sup>•</sup> , azul), para la triple interacción de tratamientos.....	87

## INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro 1A. Cuadrados medios (CM) y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 1 en la Unidad Académica Marín.....	109
Cuadro 2A. Comparación de medias de las diferentes fuentes de variación obtenidas para el Experimento 1.....	110
Cuadro 3A. Cuadrados medios y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 2 de la Unidad Académica Marín.....	111
Cuadro 4A. Comparación de medias de las diferentes fuentes de variación obtenidas para el Experimento 2 de la Unidad Académica Marín.....	112
Cuadro 5A. Cuadrados medios y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 3.....	113
Cuadro 6A. Comparación de medias para las diferentes variables fenotípicas obtenidas para el Experimento 3, Maíces nativos de Nuevo León.....	114
Cuadro 7A. Cuadrados medios y coeficiente de variación para los compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 1.....	115
Cuadro 8A. Cuadrados medios y coeficientes de variación obtenidos para las variables de compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 2.....	115
Cuadro 9A. Cuadrados medios y coeficientes de variación obtenidos para las variables de compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 3.....	116
Cuadro 10A. Cuadrados medios y coeficientes de variación para las variables obtenidas de compuestos bioactivos en grano de la Unidad Académica Marín.....	116
Cuadro 11A. Cuadrados medios obtenidos para cada una de las fuentes de variación fenotípicas.....	117
Cuadro 12A. Cuadrados medios presentes en las diferentes variables medidas por el porómetro de estado constante Li-1600 en el experimento sequía y altas temperaturas.....	118
Cuadro 13A. Cuadrados medios presentes en las diferentes variables medidas por el medidor portátil de fotosíntesis Li-6400 en el experimento sequía y altas temperaturas.....	119

Cuadro 14A. Cuadrados medios presentes en las variables cuantificadas para determinar compuestos bioactivos en el experimento con sequía y altas temperaturas.....	120
Cuadro 15A. Comparación de medias para los resultados de la prueba de Folin-Ciocalteu y de la prueba de DPPH <sup>•</sup> en la doble interacción, temperatura X genotipo X humedad.....	121
cuadro 16A. Correlación entre compuestos fenólicos totales por Folin-Ciocalteu y DPPH.....	121
cuadro 17A. Cuadrados medios para las fuentes de variación del experimento postantesis con tratamiento de calor inducido.....	122

## RESUMEN

México, como centro de origen del maíz, cuenta con una amplia gama de maíces nativos con diferentes características de interés, que pudieran ser de utilidad para el ser humano, como el aprovechamiento en los compuestos bioactivos. Los compuestos bioactivos tienen una amplia gama de funciones en las plantas, ya sea en los granos generando una mejora considerable en su calidad, o en sus hojas, siendo de alto interés por sus capacidades inhibitorias de radicales libres, así como sus funciones estructurales y de pigmentación. Tomando esto en cuenta, el objetivo general de este proyecto fue analizar la relación entre el contenido de compuestos bioactivos y su resistencia a estrés por sequía y altas temperaturas, acentuadas por el cambio climático en variedades de maíces nativos provenientes de diferentes estados de la república, realizando una caracterización fenotípica y de compuestos bioactivos en maíces nativos provenientes de diversos puntos de la República Mexicana. Posteriormente, se seleccionaron los genotipos de mayor interés y fueron sometidos a estrés por altas temperaturas y sequía, y se analizaron las características fenotípicas, fisiológicas y de las concentraciones de compuestos bioactivos. La caracterización fenotípica y de compuestos bioactivos mostró diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre los genotipos evaluados, por lo que se

seleccionaron cuatro genotipos con características deseables, como concentración de compuestos bioactivos en hoja y grano, precocidad y tamaño. Amarillo Nanche Dulce, Rojo Mochitlán, Rojo Olinalá y Reventador Café. Fueron sometidos a estrés por sequía y altas temperaturas en un experimento controlado en macetas presentando diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre ellos, así como un comportamiento de interés ante las condiciones de estrés, como altos y bajas concentraciones. Entre los resultados sobresalientes, se mostró que las plantas pueden extender los intervalos entre días a floración masculina y días a floración femenina, entre otras características. Por otra parte, los datos fisiológicos mostraron que el estrés por sequía del suelo afectó la conductancia estomática, así como el daño a los fotosistemas, mientras que la interacción entre estrés de temperatura y humedad afectó la transpiración y la concentración de  $\text{CO}_2$  intracelular. Los compuestos bioactivos presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en la triple interacción, por lo que el comportamiento de los genotipos fue cambiante dependiendo del tipo de estrés aplicado. Los análisis de correlación mostraron valores negativos y significativos entre la concentración de compuestos bioactivos y la tasa fotosintética bajo las condiciones control. Acorde a lo mencionado se puede concluir que las poblaciones nativas cuentan con características fenotípicas, fisiológicas y de concentración de compuestos bioactivos de alto interés para los programas de mejoramiento genético, así mismo se concluye que los compuestos bioactivos son una herramienta de importancia para la resistencia a estrés abiótico con áreas de oportunidad por explorar, dando cabida a la investigación a estrés abiótico en maíces nativos.

## SUMMARY

Mexico, as the center of origin of maize, has a wide range of native maize varieties with different characteristics of interest which are useful for humans, among these, bioactive compounds. Bioactive compounds have a wide range of functions in plants, either in grains generating a considerable improvement in their quality, or in their leaves, being of high interest for their inhibitory capabilities of free radicals, as well as their structural and pigmentation functions. Taking this into account, the overall objective of this project was to analyze the relationship between the content of bioactive compounds and their resistance to drought stress and high temperatures in native maize varieties from different states of the Mexican Republic, performing a phenotypic characterization and bioactive compounds analysis in native maize. Phenotypic and bioactive compound characterization showed significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between the evaluated genotypes, so four genotypes with desirable characteristics were selected, such as concentration of bioactive compounds in leaf and grain, precocity, and size. Subsequently, the genotypes Amarillo Nanche Dulce, Rojo Mochitlán, Rojo Olinalá and Reventador Café, were selected and subjected to stress due to high temperatures and drought, and the phenotypic, physiological and concentration characteristics of bioactive compounds were analyzed. The drought and high temperatures stress induction was achieved in a pot controlled experiment

which resulted in significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between the conditions, as well as a behavior of interest to stressful conditions, such as high and low values for phenotypic, physiological and bioactive compounds. Among the outstanding results, it was shown that plants can extend the intervals between days to male flowering and days to female flowering, among other characteristics. On the other hand, physiological data showed that soil drought stress affected stomatic conductance as well as a damage to photosystems, while the interaction between temperature and drought stress affected transpiration and intracellular CO<sub>2</sub> concentration. The bioactive compounds had significant differences ( $p \geq 0.05$ ) in the double interaction, so the behavior of the genotypes was changing depending on the type of stress applied. According to the above, it can be concluded that native populations have phenotypic, physiological and concentration characteristics of bioactive compounds of high interest for genetic improvement programs, as well as bioactive compounds are a tool of importance for resistance to abiotic stress with areas of opportunity to be explored, giving room for research to abiotic stress in native maize.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han observado las consecuencias causadas por el cambio climático en el deterioro del medio ambiente, como son las perturbaciones encontradas en el régimen hidrológico, provocando fenómenos naturales asociados a la temperatura y el agua, causando afecciones a los cultivos de mayor importancia (Arellano-Monterrosas, 2010).

El Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (PICC) ha señalado que la temperatura del planeta ha tenido un incremento de 0.74 °C en los últimos 100 años, lo cual, si continua en aumento, se esperan mayores cambios en la biodiversidad, salud y agricultura, difíciles de calcular (Conde, 2011).

En el país y el mundo, uno de los alimentos con mayor importancia en la canasta básica de la población es el maíz. De acuerdo a la Secretaría de Agricultura y desarrollo rural (SEDAR), el consumo promedio de maíz *per cápita* al año es de 196.4 kg, principalmente en el consumo de tortillas, representando el 20.9 % del gasto total de alimentos y bebidas realizado por las familias mexicanas (SAGARPA, 2017).

La producción de maíz se ha visto afectado por el cambio climático, ya que el incremento de la temperatura causa problemas en polinización, aumento de respiración y disminución de fotosíntesis y afecta el comportamiento fenológico, mientras que la disminución de temperaturas reduce el crecimiento y desarrollo de la planta. El estrés hídrico disminuye el crecimiento celular, síntesis de proteínas, afecta el sistema estomático, así como la asimilación de dióxido de carbono (Ahumada-Cervantes *et al.*, 2014).

Dentro de la variabilidad genética en el cultivo del maíz, existe un grupo especial de genotipos que se caracteriza por el contenido de diversos pigmentos, generando granos de colores como verde, amarillo, rojo, azul y morado. Algunas de estas tonalidades se deben a la presencia de antocianinas, las cuales son sales glucosadas con propiedades antioxidantes por lo que han tomado el interés de muchos en el mercado de la salud (Aguilera-Otíz, 2011; Quispe-Jacobo *et al.*, 2011). También se ha observado un aumento en la cantidad de antocianinas al estar el cultivo bajo estrés hídrico o térmico. La producción de estos pigmentos ayuda a la protección de compuestos fotosensibles, protección del aparato fotosintético, así como protección a la radiación UV (Efeoğlu *et al.*, 2009; Gould, 2004). No solo estos compuestos son de alta importancia, los flavonoides también juegan un papel importante, ya que, aparte de funcionar como pigmentos para flores y frutos creando colores llamativos para polinizadores, los flavonoides están involucrados en un mayor aprovechamiento de radiación UV, fertilidad y resistencia a enfermedades y agentes patógenos (Grayer, *et al.*, 1992; Michaellek, *et al.*, 1999; Ozmianski, *et al.*, 2015).

Para la determinación de estos compuestos, los análisis fisiológicos se pueden complementar con el uso de técnicas moleculares, las cuales pueden ayudar a obtener información importante en la expresión genética para la producción de compuestos de interés, mediante la búsqueda de secuencias asociadas, o polimorfismos presentes en el genotipo que significan información de gran valor para su uso en el mejoramiento genético vegetal (Ríos *et al.*, 2009).

En base a la importancia que juegan los compuestos fenólicos en la respuesta a las condiciones de estrés de agua y temperatura, el presente trabajo tiene los siguientes objetivos:

**Hipótesis:** Los genotipos nativos de maíz son una fuente de recursos genéticos para la adaptación a condiciones de estrés abiótico (alta temperatura, sequía) mediante la síntesis de metabolitos secundarios de interés en hoja y grano.

**Objetivo general:** Identificar el papel desempeñado por los compuestos bioactivos y la resistencia a estrés por sequía y altas temperaturas en variedades de maíces nativos provenientes de diferentes estados de la república.

**Objetivos específicos:**

- Caracterizar agronómicamente los genotipos de maíces nativos de diferentes estados de México sembrados en Marín, Nuevo León.
- Cuantificar compuestos bioactivos en hoja, vaina y grano de maíces nativos a nivel de campo.

- Determinar la afección de estrés por sequía y altas temperaturas en genotipos de interés basado en características fenotípicas, fisiológicas y expresión de compuestos bioactivos.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Maíz.

El maíz (*Zea mays L.*) es una especie base en la alimentación y cultura de Mesoamérica, ya que se considera como un elemento estratégico para la soberanía y seguridad de los alimentos en distintas formas gracias a sus valores socioculturales, principalmente para el medio rural. Es un cereal domesticado e incluso, venerado por diversas culturas prehispánicas y sigue siendo la base de la alimentación mexicana, ya que es consumido de una amplia variedad de formas y platillos a lo largo y ancho del país (González-Cortés *et al.*, 2016).

#### 2.1.1. Origen y distribución

México se considera el punto de origen del maíz, considerando que en este espacio geográfico se comenzó el proceso de domesticación de esta planta hace aproximadamente ocho mil años mediante la selección y reducción de la diversidad genética que se encontraba en sus parientes silvestres. Actualmente se puede encontrar alrededor del globo en diversas variedades adaptadas a los distintos climas y condiciones agroecológicas de cada región (Kato *et al.*, 2009).

### 2.1.2. Descripción botánica

El maíz pertenece a las plantas monocotiledóneas, presentándose en el Cuadro 1 la clasificación otorgada por el Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS por sus siglas en inglés), cuenta con raíces fasciculadas y funcionan como anclaje para la planta. El tallo tiene forma de culmo con entrenudos, sin ramificación y puede llegar a medir los 4 m de altura. Cuenta con hojas alternas, paralelinervias y cuentan con una vaina en cada hoja que nace desde el nudo. Es una planta monoica, cuenta con flores masculinas y femeninas separadas, pero en la misma planta. La flor masculina es una panícula y se encuentra en la parte superior de la planta, mientras que la flor femenina se sitúa a media altura y genera estilos que se alargan y emergen formando las sedas. Las mazorcas (flor fecundada) generan aproximadamente de 600 a 1000 granos que se encuentran entre 16 y 20 hileras (en ocasiones más bajo) con unos 40-60 granos cada una (Ortas, 2008).

Cuadro 1. Descripción taxonómica del maíz (ITIS, 2018).

Subdivisión	Nombre
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Superorden	Lilianaes
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Genero	<i>Zea</i>
Especie	<i>Mays</i> L.

### **2.1.3. Requerimientos agroecológicos del maíz**

El maíz es una planta de día corto (menos de 10 horas) aunque la mayoría de los cultivares se comportan de forma indiferente a la duración del día. Se puede encontrar en lugares con altitudes de 0 a 3300 msnm. Este requiere de 500 a 800 mm de agua, dependiendo de la variedad a sembrar, así como una temperatura de 24 a 30 °C para su desarrollo óptimo, teniendo un rango térmico de 15 a 35 °C, con una temperatura base de 10 °C. Requiere un pH entre 5.5 y 7.5, así como un suelo con buen drenaje, ya que no tolera encharcamientos (INIFAP, 1999).

### **2.1.4. Etapas fenológicas**

Las etapas de crecimiento del maíz se pueden dividir en dos grandes categorías, como lo son: la etapa vegetativa y la etapa reproductiva, indicándose como Vn o Rn (n = Número de etapa), respectivamente. La etapa vegetativa se subdivide según la hoja que haya emergido, hasta la fase VT (Vegetativa tardía), donde la última rama de la panícula es visible; mientras que la fase reproductiva (Rn) lleva mayor complejidad, comienza con la etapa R0 que indica la antesis, la etapa R1 deja visibles los estigmas, R2 presenta la etapa de grano ampolla, R3 presenta el inicio de la etapa de grano lechoso, R4 es la etapa lechosa en la que los granos comienzan a llenarse y mayor presencia del embrión, la etapa R5 se presenta cuando los granos se llenan de almidón sólido y la etapa R6 se refiere a la madurez fisiológica (Quiroz, 2016). Existen también compendios que se encargan de clasificar las etapas fenológicas en estadios principales del 0 al 9, donde se desprecia el número 2 y número 4, dando mayor especificidad a las etapas. El

estadío principal 0 se enfoca en la germinación, el estadío principal 1 se enfoca en el desarrollo de las hojas, el estadío principal 3 se basa en el crecimiento longitudinal del tallo, el estadío principal 5 en la aparición de órganos florales, el estadío principal 6 en la floración, el estadío principal 7 en la formación del fruto, el estadío principal 8 en la maduración de frutos y semillas, y el estadío principal 9 en la senescencia (Weiber, 1998).

### **2.1.5. Adaptación**

El maíz en México se puede encontrar en ambientes desde semiáridos, hasta ambientes húmedos, con un régimen térmico desde templado a muy cálido, así como existen especies que requieren una menor precipitación acumulada que el valor recomendado para el ciclo de madurez, lo cual se debe al proceso de migración que ha tenido el maíz mediante procesos de aclimatación y adaptación, causando cambios genéticos que influyen en el fenotipo (Enrique, 2013). La introducción de materiales en diferentes localidades se basa en la producción y calidad de los maíces a sembrar, siendo su adaptación al clima un punto clave para asegurar las cualidades que tendrá el cultivo. En estudios anteriores se ha evaluado las características de adaptación al ambiente como rendimiento, días a floración masculina y femenina, altura de mazorca, hojas arriba de la mazorca, área de la hoja de mazorca, peso de cien granos, longitud de mazorca, diámetro de mazorca, longitud de grano, ancho de grano, grosor de grano, factor de desgrane (peso de grano/(peso de olote más peso de grano)), entre otros (Ángeles-Gaspar, 2010; Díaz Coronel, 2009), aunque los valores para ser considerados como tal cambian de localidad a localidad.

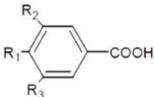
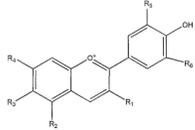
## **2.2. Metabolismo secundario**

Las plantas han desarrollado defensas químicas contra los daños ocasionados por factores tanto bióticos como abióticos, induciendo la síntesis y acumulación de compuestos de bajo peso molecular, como lo son los alcaloides, terpenoides y los fenilpropanoides, así como metabolitos secundarios que se encargan de las especies reactivas de oxígeno tóxicas para las células vegetales (Sepúlveda-Jiménez, 2003). Existe también la producción de pigmentos que tienen diferentes funciones en la planta, tales como las antocianinas, que aparentemente juegan un papel importante en la protección contra rayos UV en la planta. En el Cuadro 2 se muestra una comparación de características entre los metabolitos secundarios de interés.

### **2.2.1. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios con mayor abundancia en las plantas, los cuales poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilos. Estos han ganado atención debido a su potencial antioxidante, así como sus funciones protectoras a rayos UV, enfermedades, y plagas, así como una coloración en las plantas (Dai, 2010; Ozmianski *et al.*, 2015). Para contrarrestar el estrés causado por la respuesta de hipersensibilidad, se cree que las plantas comenzaron a sintetizar una gran cantidad de compuestos fenólicos, ya que no solo ayudan contra las especies reactivas de oxígeno (ROS) sino que también contra estrés causado por depredadores, así como por radiación UV, temperatura y sequía (Kumar, 2019). Los compuestos fenólicos pueden absorber la radiación de la luz de

Cuadro 2. Comparación por literatura de los diferentes metabolitos secundarios de interés.

Metabolito secundario	Características	Representación Grafica	Fuentes
Ácidos fenólicos	Metabolitos de mayor abundancia en las plantas, cuentan con potencial funcional en procesos como la fotosíntesis, síntesis de proteínas, actividad enzimática y alelopatía.	 <p data-bbox="1150 703 1570 773">Representación de los ácidos fenólicos de tipo benzoico.</p>	(Bravo, <i>et al.</i> 2013)
Antocianinas	Son los pigmentos hidrosolubles principales entre los visibles al ojo humano. El color de este pigmento se basa en las posiciones del glicósido en el carbono 3 y/o 5, siendo un mono, di o trisacárido.	 <p data-bbox="1199 1008 1524 1073">Representación de las antocianinas.</p>	(Guillén-Sánchez, 2014)
Carotenoides	Son pigmentos involucrados en el metabolismo fotosintético, y ayuda a prevenir el daño por estrés oxidativo por su capacidad antioxidante.	 <p data-bbox="1157 1252 1566 1317">Representación gráfica de la zeaxantina.</p>	(Luo, 2020)

40 a 320 nm, las cuales son las más dañinas contra proteínas, así como ácidos nucleicos (Chalker-Scott, 1989).

La gran capacidad inhibitoria de radicales que tienen los compuestos fenólicos también ayuda en la neutralización de los efectos oxidativos; sin embargo, se ha mostrado que cuentan con potencial de quelación en iones de metales pesados, así como, en altas concentraciones, presentan capacidades antibióticas y antifúngicas (Kulbat, 2016).

Los ácidos fenólicos, los cuales son moléculas simples de los compuestos fenólicos, se dividen en los derivados de ácido benzoico y los derivados de ácido cinámico, encontrándose en altas concentraciones en la planta y se han asociado a funciones como la fotosíntesis, síntesis de proteínas, actividad enzimática y alelopatía (Dai, 2010; Mesarović, 2017).

Los ácidos fenólicos se producen mediante la ruta de los fenilpropanoides a través del ácido shikimico, durante la ruta de los monolignoles, los cuales son precursores tanto durante la ruta como de sus productos, y se obtienen mediante el rompimiento de polímeros de la pared celular, tales como la lignina (Kumar et al., 2019).

De acuerdo a Mesarović (2017), las lecturas en el espectrofotómetro para los ácidos protocatecuicos y ácidos cumáricos se establecen a 300 nm, los ácidos ferúlicos y caféicos se leen a 290 nm, mientras que el ácido gálico se lee a 278 nm.

### **2.2.2. Pigmentos**

Dentro de los pigmentos encontrados en los maíces están los carotenoides, así como los flavonoides. Los carotenoides se dividen en carotenos (carotenoides hidrocarbonados) y xantofilas (derivados del oxígeno). En las xantofilas se encuentran las luteínas y las zeaxantinas, los cuales son de suma importancia gracias a su actividad antioxidante (Salinas-Moreno *et al.*, 2008).

#### **2.2.2.1 Flavonoides**

Los flavonoides son pigmentos naturales que se encuentran en las plantas superiores. Estas protegen a las plantas del daño causado por agentes oxidantes, rayos ultravioletas, e incluso la contaminación ambiental. Estos cuentan con grupos hidroxilo fenólicos y cuentan con propiedades de quelación de hierro y otros metales de transición, otorgándoles una gran capacidad antioxidante (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

#### **2.2.2.2. Antocianinas**

Las antocianinas son el grupo más importante de los pigmentos hidrosolubles dentro de la región visible del espectro de luz. Estas cuentan con una amplia gama de funciones en la planta como lo es la atracción de polinizadores, protección contra efectos de radiación ultravioleta, contaminación viral y microbiana, entre otras. Ha ganado importancia gracias a sus efectos antioxidantes, haciendo que se pueda conferir un valor agregado a productos de consumo humano (Garzón, 2008).

Las especies vegetales cuentan con diferentes tipos de flavonoides, estos se presentan en la Figura 1, y cuentan con propiedades protectoras para las plantas así como de actividad antioxidante para los humanos (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

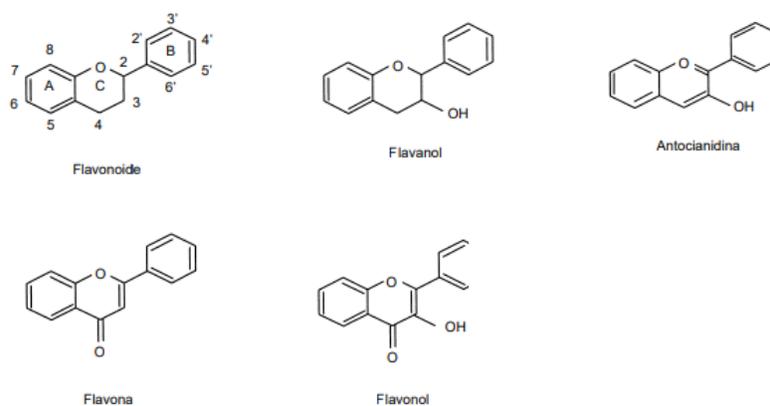


Figura 1. Estructura de los diversos flavonoides presentes en plantas (Martínez Flórez *et al.*,2002).

Las antocianinas son sales glucosiladas con un catión flavilio (sin el glucósido se denomina Antocianidina). Las antocianidinas consisten en un anillo de cromeno (anillo A y C) y cuenta con un segundo anillo aromático (anillo B), los cuales difieren según los radicales presentes. En la naturaleza se ha encontrado que el 90 % de las antocianinas se basan en seis estructuras básicas (cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina). La estructura de las antocianidinas cuenta con la característica, que dependiendo de los radicales unidos en R1 y R2, se obtiene una antocianidina diferente (Guillén-Sánchez, 2014) siendo visible en la Figura 2.

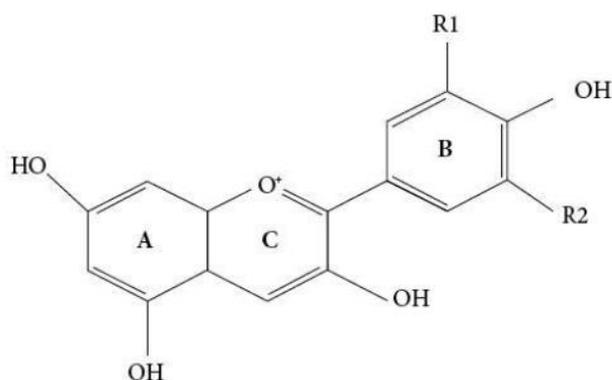


Figura 2. Estructura genérica de las antocianidinas (Guillén-Sánchez *et al.*, 2014).

Las posiciones de los radicales son parte fundamental de la estructura de las moléculas de las antocianinas como se observa en la Figura 3, donde se comparan los diferentes tipos de antocianinas (Mangalvedhe *et al.*, 2015).

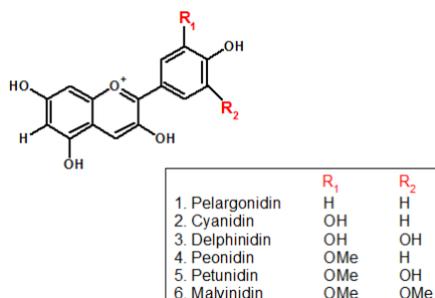


Figura 3. Diferentes tipos de antocianinas (Pelargonidina, Cianidina, delfinidina, Peonidina, Petunidina, malvinidina) según sus radicales (Hidrogeno, Hidróxido o Metoxilo) (Mangalvedhe *et al.*, 2015).

Uno de los pigmentos encontrados en los maíces de colores son las antocianinas, las cuales son un glucósido que es el responsable de los colores rojo, violeta, azul y púrpura que se observa en las flores, frutos, hojas y otros tejidos vegetales. En el maíz, comúnmente es fácil detectarlo en el grano, se encuentra en el pericarpio así como en la capa aleurona (Soto-Mooney, 2013). Dentro del maíz morado se han encontrado diversas antocianinas. En mayor cantidad se ha observado la cianidina-3-glucosido en el grano, la cual puede dar una tonalidad morada-azul; sin embargo, también se puede encontrar peonidina-3-glucosido, el cual da como resultado la tonalidad morada-rojo, así como cianidina-6-malonil glucósido en menor cantidad (Guillén-Sánchez *et al.*, 2014) como se compara en la Figura 4.

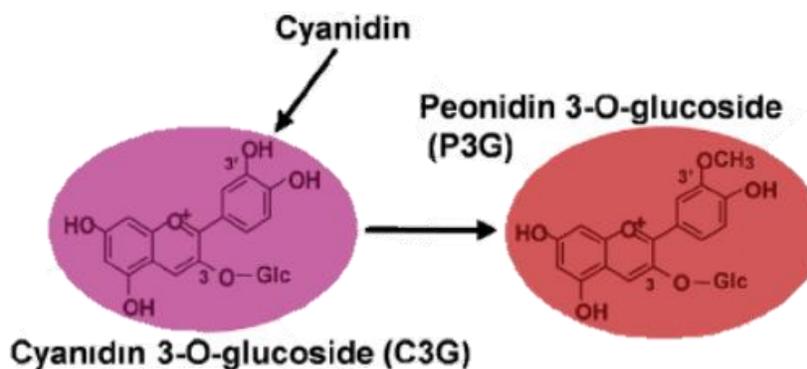


Figura 4. Comparación de Cianidina 3-O-Glucósido (C3G) y Peonidina 3-O-Glucósido (P3G) donde se observa la diferenciación de tonalidad presente (Zhu, 2017).

Las antocianinas se han hallado en hojas de diversas plantas, presentando características benéficas, como lo es la protección de compuestos fotosensibles, aparatos fotosintéticos y radiación ultravioleta, siendo un compuesto de alto interés por sus diversidad de usos (Gould, 2004).

En trabajos anteriores se ha encontrado la relación entre la síntesis de antocianinas en grano y la sequía en plántulas de maíz, obteniendo resultados desde 0.028 hasta 0.1 mg/g (Efeoglu *et al.*, 2009), algunos otros trabajos se han realizado en olote, y grano (Salinas-Moreno *et al.* 2013); sin embargo, se han visto pocos trabajos que involucren la concentración de antocianinas en otros tejidos de la planta de maíz.

Los contenidos de antocianinas pueden variar, Pietrini (2002) obtuvo  $8.1 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-1}$  en hojas de maíz, mientras que Gu (2018) obtuvo valores entre 0.09 y  $44.3 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ; cabe mencionar que los genotipos usados en los experimentos de Gu, presentaban una tonalidad mayoritariamente púrpura.

### **2.2.2.3. Carotenoides**

Estos son pigmentos que apoyan la recolección de la luz durante el proceso fotosintético, así como también tienen función de sustancias fotoprotectoras, ya que estos inhiben la propagación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros radicales libres, impidiendo la acción nociva que pueden causar estos a nivel celular (Mínguez-Mosquera, 2005).

Nutritionalmente, los carotenoides de mayor importancia son los  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\alpha$ -criptoxantina luteína, zeaxantina, licopeno, así como se muestran las estructuras en la Figura 5; sin embargo, desde el punto de vista nutricional, tres de ellos se consideran precursores de la provitamina A, los cuales son  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina (Beltrán, 2012). Esto puede ser útil especialmente en países en desarrollo donde se encuentra un déficit en vitamina A, el cual puede

causar ceguera, así como es vinculada a la muerte prematura, principalmente en niños, cáncer, sarampión, así como la degeneración macular (Health, 2016).

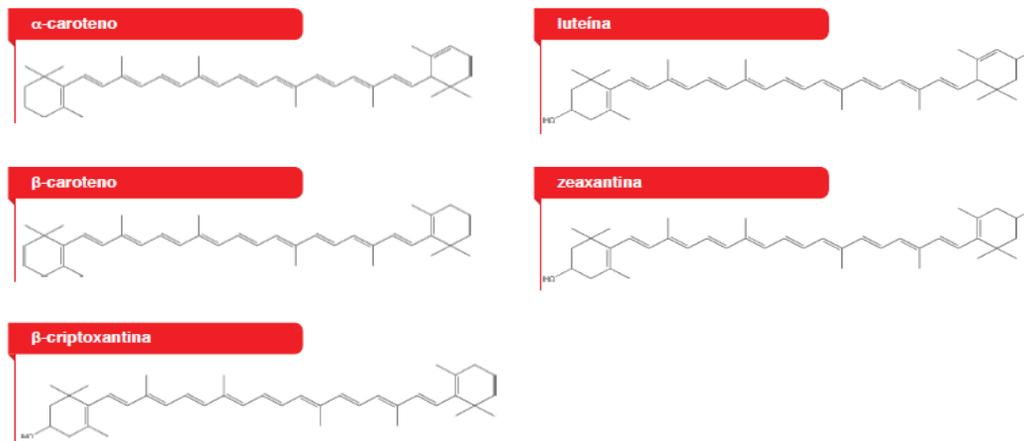


Figura 5. Estructuras de los principales carotenoides, observándose los carotenos, luteína, zeaxantina, y β-criptoxantina.

Los maíces que presentan tonalidades tanto amarillas, así como purpuras, azules, rojas y cafés, han ganado interés por sus funciones nutrimentales, aunque el color no equivalga a que estos cuenten con funciones nutricionales; por ejemplo, los genotipos amarillos contienen compuestos carotenoides con actividad relacionada a la Provitamina A principalmente los α-Carotenos y los β-Carotenos, por lo que se han desarrollado genotipos con altas concentraciones de estos compuestos con el fin de aliviar la deficiencia de la vitamina A (Rosales, 2016).

### 2.3 Afecciones por estrés abiótico

La actual situación causada por el cambio climático está afectando a diferentes especies vegetales de alta importancia alimentaria, afectando mediante las altas

temperaturas, así como diferencias en los ciclos pluviales, causando sequías en diferentes áreas del país (Arellano-Monterrosas, 2010; Esparza, 2014).

Se observa como el cambio climático no solo se presenta como cambios en los factores abióticos, sino que por consecuencia, existen afecciones bióticas que por consecuencia de migración u otros fenómenos causados por las variaciones abióticas, las cuales pueden afectar de manera significativa a diferentes cultivos (IFPRI, 2009; ONU, 2019).

### **2.3.1 Efectos en el metabolismo primario**

El estrés causado por altas temperaturas y sequía afectan al metabolismo primario de diferentes maneras, afectando principalmente a las comunidades sin acceso a sistemas de riego causando bajos rendimientos (Ureta *et al.*, 2020). Estas condiciones climáticas se pueden observar cómo anomalías en las concentraciones de CO<sub>2</sub> intracelular, tasa fotosintética, conductancia estomatal, entre otras cuestiones fisiológicas (Orozco, 2012), así como afecciones en el crecimiento de la planta, afectando de forma directa el rendimiento, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria del país, así como del planeta (Ahumada-Cervantes *et al.*, 2014).

### **2.3.2 Efectos en el metabolismo secundario**

El metabolismo secundario es de alta importancia para la resistencia hacia estrés tanto abiótico como biótico, como lo es el estrés por diferencia de altitud en genotipos que no están adaptados, donde se observa variaciones en la

concentración de compuestos fenólicos (Andrade-Andrade, 2018; Arteaga, 2016; Dias, 2012; Santacoloma, 2012).

En cuanto al estrés por altas temperaturas se observan variaciones en diferentes compuestos del metabolismo secundario, donde a mayor temperatura se observan diferentes concentraciones de compuestos fenólicos, los cuales pueden aumentar o disminuir dependiendo del cultivo (Orians, 2019), mientras que el estrés por sequía presenta diferentes valores en diferentes especies (Doğru, 2016; Gharibi, 2016; Król, 2014), también se observa como la interacción de diferentes estrés abiótico puede afectar el comportamiento de la planta, como se presenta al tener estrés por temperaturas y sequía (Hussain, 2019).

#### **2.4 Determinaciones fisiológicas**

Durante el estudio de la fisiología vegetal se han utilizado variables o características visuales en la planta, en ocasiones llamadas variables agronómicas como la altura de planta, longitud de espiga, número de nudos, entre otras, así como también variables bioquímicas, como determinación de clorofilas,  $\text{CO}_2$  intracelular, proteínas, etc. A lo largo de los años, se han desarrollado tecnologías no destructivas para analizar cuestiones fisiológicas de las plantas, facilitando la tarea de determinar variables como fotosíntesis,  $\text{CO}_2$  intracelular, fluorescencia, entre otras (Füzy, 2019); sin embargo, también es necesario tener en cuenta las posibles afecciones físicas sobre el comportamiento fisiológico de la planta que se puedan encontrar, como lo son la temperatura, y el déficit de presión de vapor, ya que estas pueden explicar fenómenos en la planta de alta importancia, siendo de gran utilidad para la

toma de decisiones en mejoramiento genético contra estrés de altas temperaturas y sequía (Herbst, 1996).

#### **2.4.1 Determinación de conductancia estomática.**

La conductancia estomática es una variable de referencia en las investigaciones relacionadas a la resistencia a estrés, en conjunto a características como temperatura de hoja y transpiración, cuyos datos muestran como el aumento de conductancia puede estar relacionado al aumento de sodio y decremento de potasio aunque se requieren análisis especializados para corroborar lo mencionado (De Azevedo Neto, 2004; West, 1986). Este tipo de análisis se puede llevar a cabo mediante un porómetro de estado constante como el equipo Li-1600.

El pirómetro de estado constante es del tipo balance nulo, el cual se basa en la medición del flujo de vapor, y el gradiente de vapor cercano a la superficie de la hoja, calculando la tasa de flujo necesaria para mantener una humedad relativa estable dentro de la cámara, midiendo al mismo tiempo la temperatura de la hoja (Pietragalla, 2012).

#### **2.4.2 Determinación de fotosíntesis por intercambio gaseoso**

El Sistema portátil para la medición de fotosíntesis Li-6400 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) se basa en la determinación de fotosíntesis por medio de intercambio gaseoso, utilizando una cámara con un analizador de gas infrarrojo (IRGA) mediante el cual mide la fotosíntesis; el sistema utiliza una cámara en forma de pinza, la cual se acomoda sobre la parte de la hoja a utilizar, enviando los resultados de forma directa a la consola. Este equipo se ha utilizado para diferentes

análisis, como lo son la cuantificación de parámetros de fotosíntesis, como difieren en las estructuras foliares, adaptación a diferentes situaciones climáticas o incluso, ante estrés abiótico (Cosgrove-davies, 2008; Savvides, 2018).

Adicionalmente, el equipo LI-6400 cuenta con un aditamento especial conocido como cámara de fluorescencia Li-6400-40 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EE. UU.), la cual se ha utilizado para los análisis de asimilación de carbono, conductancia estomática, concentración interna de CO<sub>2</sub>, transpiración, y particularmente la fluorescencia, la cual se utiliza para determinar el daño al fotosistema I de la planta (Bermúdez-Cardona, 2015). Esto se fundamenta en el hecho de que la clorofila A se observa concentrada entre los fotosistemas de la planta, tanto el I como el II, mientras que la clorofila B se observa como el más abundante complejo de recolección de luz, por lo que un cambio en la fluorescencia de clorofila A y B muestran un cambio entre los complejos de recolección y la reacción de los fotosistemas (Liu, 2018).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los experimentos se realizaron en las instalaciones de la Facultad de Agronomía, Unidad Académica Marín, ubicada en el municipio de Marín, N.L. teniendo como fecha de siembra el día 7 de marzo del 2019. Estos experimentos se desarrollaron con la finalidad de evaluar genotipos nativos provenientes de diferentes estados de la Republica según su contenido de compuestos fenólicos en lámina foliar y vaina, en diferentes etapas fenológicas. Se utilizó también los Laboratorios de Biotecnología y Química y Bioquímica de la Facultad de Agronomía, en el Campus de Ciencias Agropecuarias en Escobedo, N.L.

#### **3.1. Objetivo 1.**

##### **3.1.1. Siembra experimental**

Para cumplir con el Objetivo 1 se utilizaron materiales genéticos provenientes de distintas partes del país, separándolos en tres experimentos según su origen. En el Experimento 1 (Variedades foráneas) se utilizaron los siguientes genotipos, los cuales se encuentran en el Cuadro 3: Negro Cualác, Rojo Mochitlán, Rojo Olinalá,

Morado Mayanalán, Amarillo Tremesino, Amarillo Liberaltepec, Amarillo Nanche Dulce, Arrocillo Temalcatzinga, Pepitilla, Costeño Campuzano, Costeño Zacatepec, Reventador Negro, Reventador Café, Tabloncillo Negro, Tabloncillo Morado, Morado Hidalgo, y los testigos Asgrow 7573 y Pioneer P3057W.

Cuadro 3. Listado de genotipos presentes en el Experimento 1 con su localidad de origen y altitud.

Nombre	Nomenclatura	Localidad	Altitud (msnm)
Negro Cualác	NC	Cualác, Guerrero	1550
Rojo Mochitlán	RM	Mochitlán, Guerrero	998
Rojo Olinalá	RO	Olinalá, Guerrero	1345
Morado Mayanalán	MM	Mayanalán, Guerrero	848
Amarillo Tremesino	AT	Zirándaro, Guerrero	682
Amarillo Liberaltepec	AL	Liberaltepec, Guerrero	1581
Amarillo Nanche Dulce	AND	Huitzuco de los Figueroa, Guerrero	1346
Arrocillo Temalcatzingo	Ate	Temalacatzingo, Guerrero	1440
Pepitilla	Pe	Iguala, Guerrero	739
Costeño Campuzano	CC	Taxco de Alarcón, Guerrero	1778
Costeño Zacatepec	CZ	José Joaquín de Herrera, Guerrero	1177
Reventador Negro	RN	Sonora	≈1300
Reventador Café	RC	Chihuahua	≈1400
Tabloncillo Negro	TN	Yecora, Sonora	1576
Tabloncillo Morado	TM	Sinaloa	≈1600
Morado Hidalgo	MH	Hidalgo	≈2000- 2400
Asgrow 7573	As	-	-
Pioneer P3057W	Pi	-	-

En el Experimento 2 (Mejorados) se utilizaron los siguientes genotipos, los cuales se encuentran en el cuadro 4: Azul *in situ* V-239 Az, Arrocillo Veracruzano, Ancho mejorado V237 An, Blanco Hualahuises, Azul San Luis, y los testigos Asgrow 7573 y Pioneer P3057W.

Cuadro 4. Listado de genotipos presentes en el Experimento 2 con su localidad de origen y altitud.

Nombre	Nomenclatura	Localidad	Altitud (msnm)
<i>Azul in situ</i> V-239 Az	AIS	Iguala, Guerrero	739
Arrocillo Veracruzano	AV	Iguala, Guerrero	739
Ancho Mejorado V237 An	AM	Iguala, Guerrero	739
Blanco Hualahuises	BH	Hualahuises	409
Azul San Luis	ASL	San Luis Potosí	1638
Asgrow 7573	As	-	-
Pioneer P3057W	Pi	-	-

Para el Experimento 3 (Variedades criollas de Nuevo León) se utilizaron los siguientes genotipos, los cuales se encuentran en el Cuadro 5: Negro Perú, Rojo Refugio de Cedillo, Morado el Refugio, Morado Jesús María de Berrones, Amarillo, Morado la Soledad, Morado Puerto Piñones, Morado Peña Nevado, Morado la Siberia, Morado la Ascensión, así como los testigos Asgrow 7573 y Pioneer P3057W.

Cuadro 5. Listado de genotipos presentes en el Experimento 3 con su localidad de origen y altitud, todas ellas en el estado de Nuevo León.

Nombre	Nomenclatura	Localidad	Altitud (msnm)
Negro Perú	NP	La Ascensión, Aramberri	1960
Rojo Refugio de Cedillo	RRC	Refugio de Cedillo, Dr. Arroyo.	1920
Morado el Refugio	MR	El Refugio, Zaragoza.	2069
Morado Jesús María de Berrones	MJMB	Jesús María de Berrones, Dr. Arroyo.	1569
Amarillo	Am	Aramberri.	1953
Morado la Soledad	MS	La Soledad, Aramberri.	830
Morado Puerto Piñones	MPP	Puerto Piñones.	2367
Morado Peña Nevada	MPN	San Antonio Peña Nevada, Dr. Arroyo.	1484
Morado la Siberia	MS	La Siberia, Zaragoza.	2167
Morado la Ascensión	MA	La Ascensión, Aramberri	1960
Asgrow 7573	As	-	-
Pioneer P3057W	Pi	-	-

Esta localidad se encuentra registrada con un clima semicálido subhúmedo con lluvias escasas todo el año, suelo aluvial, temperaturas promedio entre 18 a 24 °C, y precipitación anual de 600 a 800 mm; se encuentra ubicado en las coordenadas 25.883333,-100.033333 y a una altura de 393 msnm. Se sembró bajo un diseño de bloques al azar. Para lo cual se utilizó un terreno con un área de 1,248 m<sup>2</sup>, con una distancia de espaciamiento entre surcos de 0.8 m; previo a la siembra se determinaron las unidades experimentales, constando de dos surcos de 5 m de largo con una separación entre plantas de 0.2 m, utilizando tres repeticiones. Posterior a la siembra se aplicó un herbicida preemergente Atrazin 90 WG Diablo (Tridente S.A. de C.V.). Para el control de plagas se utilizó el producto Muralla Max 300 OD (Bayer CropScience) y posteriormente Sevin® 80 % (Bayer CropScience) en concentraciones de 0.4 g·L<sup>-1</sup>, aplicado con mochila de aspersión de capacidad de 15 litros.

### **3.1.2. Toma de datos fenotípicos y ambientales**

Se tomaron datos de vigorosidad visual al día 20 después de la siembra (Vig20) así como vigorosidad visual al día 60 después de la siembra (Vig60) así como las Unidades Calor en las etapas antesis y postantesis (GDDAn, GDDPoAn respectivamente). Para la vigorosidad visual se consideró la altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, así como el daño causado por plagas (Barchuk, 2000). Se utilizó una escala del 0 al 4 donde:

- La categoría 0 representa aquellas plantas que no germinen.
- La categoría 1 se tomó como plantas con un desarrollo malo.
- La categoría 2 se consideró como un crecimiento regular.

- La categoría 3 se refiere a los genotipos cuyo desarrollo fue satisfactorio.
- La categoría 4 se encuentran los genotipos con un desarrollo sobresaliente.

Como variables fenotípicas se consideraron días a floración masculina y días a floración femenina (DFm, DFf respectivamente), medidas desde el día de siembra hasta emergencia del 50% de espigas en antesis y estigmas expuestos en el jilote de la planta, respectivamente. Asimismo, se consideraron la variable altura de planta (h), utilizando tres plantas por unidad experimental, medida desde la base del suelo hasta la hoja bandera. La longitud de espiga (LE), tomándola de cinco plantas al azar por cada unidad experimental y rendimiento de grano (Rg), obtenido mediante el cálculo de peso de grano/ha, escalando los valores del área sembrada de cada unidad experimental a una hectárea. Para el análisis químico, se tomaron muestras de hoja y vaina colectadas en antesis y postantesis, siendo postantesis 20 días después de la floración masculina, tomando tres hojas completas (hoja y vaina) por unidad experimental, para después ser transportadas al laboratorio de Química en la Facultad de Agronomía, en el Campus de Ciencias Agropecuarias de Escobedo, N.L., donde se llevó a cabo el proceso de extracción de compuestos de interés, tales como compuestos fenólicos totales y capacidad inhibitoria de radicales

## **3.2 Objetivo 2.**

### **3.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en tejido foliar**

Para la extracción de compuestos fenólicos se utilizaron 0.25 g de discos foliares de 10 mm de diámetro; se sumergieron en 5 ml de metanol al 95% a 4 °C durante 24 h. El contenido total de compuestos fenólicos se determinó por la prueba de

Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Toluca, México) haciendo uso de ácido gálico (Sigma Aldrich, Toluca, México) como estándar basándose en Zhang (2018) con ligeras modificaciones, mientras que la determinación de capacidad inhibitoria de radicales se llevó a cabo por el método DPPH<sup>•</sup> (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Toluca, México).

### 3.2.2. Extracción y cuantificación de antocianinas en tejido foliar

Se utilizó una muestra de 0.25 g de discos foliares de 10 mm de diámetro, los cuales se sumergieron en 5 ml de Metanol:HCl (99:1), se agitaron y se mantuvieron durante 24 h en oscuridad a 4 °C para después agregar 5 ml de cloroformo y 1 ml de agua destilada (Modificado de Zhang, 2018).

Los cálculos para la cuantificación se llevaron a cabo mediante la fórmula propuesta por Gu (2018) a una longitud de onda de 530 nm:

$$\text{Contenido de Antocianinas} \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{Abs}{eL} \times PM \times D \times \frac{v}{g}$$

Donde Abs se refiere a la absorbancia obtenida, e es la absorbancia molar del cianidin-3-glucosido (26900 ml/(mmol\*cm)), L es la longitud de la celda (1 cm), PM es el peso molecular de la antocianina (449.2 Da), D es el factor de dilución, v es el volumen final de la muestra (11 ml) y g representa el peso de la muestra en gramos.

### 3.2.3. Cuantificación de antocianinas en grano mediante HPLC

Para la cuantificación de antocianinas se utilizó la metodología propuesta por Palacios-Rojas (2018), la cual se llevó a cabo pesando 20 mg de la muestra en un microtubo de 2 ml. Se agregan 600 µL de hexano y se agitó en vortex cinco veces.

Después de esto, se agregan 100  $\mu\text{L}$  de ácido gálico, se agitó en vortex cinco veces, y después se adicionaron 300  $\mu\text{L}$  de metanol acidificado, para agitar nuevamente en vortex. Se centrifugó a 10000 RPM durante cinco minutos, y con una pipeta de plástico, se retiró y descartó el sobrenadante. Se colocaron los tubos en el termomixer y se agitaron a 500 RPM durante cinco minutos a 40 °C, posteriormente se agitaron en vortex. Se centrifugó a 10000 RPM durante cinco minutos y con una pipeta Pasteur se recuperó el sobrenadante a un tubo limpio y debidamente centrifugado. Se realizó el mismo proceso dos veces más, comenzando desde la adición de los 600  $\mu\text{L}$  de hexano hasta recolectar aproximadamente 1.8 mL de sobrenadante. Se evaporó totalmente los sobrenadantes haciendo uso del  $\text{NO}_2$ , y se reconstituyó haciendo uso de 100  $\mu\text{L}$  de metanol acidificado. Se transfirió a viales previamente etiquetados para después inyectar al HPLC. Se utilizó una fase móvil A de agua con 0.09% de Ácido Trifluoroacético (TFA) grado HPLC (Pierce, CAS 76-05-1), pH de  $2.0 \pm 0.5$ , una fase móvil B de Acetonitrilo:Metanol (50:50, v/v) con 0.09 % de TFA grado HPLC, llevándose a cabo una corrida de 35 min con flujo de trabajo de  $0.4 \text{ mL min}^{-1}$ , una solución de lavado de agua:metanol (50:50, v/v). La temperatura de columna fue de 35 °C, y el automuestreador a 10 °C, con un volumen de inyección de 20  $\mu\text{L}$ , tomando lectura a una longitud de onda de 525 (210 – 580) nm, utilizando estándares de Cianidina-3-glicósido clorada, pureza 95 % (Sigma-Aldrich, CAS 7084-24-4), pelargonidina-3-glicósido, pureza 97 % (Sigma-Aldrich, CAS 18466-51-8), y Peonidina-3-glicósido, pureza 95 % (Sigma-Aldrich, CAS 6906-39-4).

### **3.2.5. Extracción y cuantificación de carotenoides en grano mediante UPLC**

La cuantificación se llevó a cabo en los genotipos que presentaron una coloración amarilla siguiendo la metodología propuesta por Palacios-Rojas (2018). Para la extracción se utilizaron 600 mg de harina proveniente de la molienda de los granos y se depositaron en tubos de vidrio de 15 mL con tapón de rosca, para después agregar 6 mL de etanol con 0.1 % de BHT como antioxidante, para después agitar en vortex. Después de la agitación se incubaron las muestras a baño maría en una temperatura de 85 °C durante 5 minutos, se retiraron los tubos y se agregaron 500 µL de KOH al 80%, para después agitar por vortex. Se volvió a incubar durante 10 minutos a baño maría a la misma temperatura y se agitaron cada cinco minutos. Al finalizar los 10 minutos se retiraron los tubos de incubación y se colocaron en hielo triturado. Se agregaron 3 mL de agua desionizada fría y se agitaron en vortex. Se adicionaron 3 mL de hexano a cada tubo y se agitaron en vortex hasta diluir completamente los grumos de harina para después pasar a centrifugar las muestras a 3000 RPM durante tres minutos. La fase superior se extrajo con una pipeta Pasteur a un tubo limpio debidamente etiquetado, manteniéndolos en hielo. Se repitieron los pasos desde la adición de hexano dos veces más. Se pasó a evaporar los sobrenadantes mediante el uso de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), se reconstruyó la muestra evaporada con 500 µL de metanol: 1,2-dicloroetano a proporciones 50:50. Se filtraron las muestras con acrodiscos de 0.22 µm y se pasaron a viales previamente etiquetados para la inyección al UPLC marca Waters, Acquity UPLC con módulos Binary solvent manager, Sample manager, así como detector de diodos PDA y UV-Vis. Se utilizó una fase móvil A de agua y Acetato de amonio 10mM:2-propanol

(90:10, v/v) y una fase móvil B de acetonitrilo:2-propanol(90:10, v/v) con un tiempo de corrida de 10 min y un flujo de trabajo de 0.3 mL min<sup>-1</sup>. Se llevo a una temperatura de columna de 35 °C y una temperatura de automuestreador de 10 °C con un volumen de inyección de 2 µL, tomando lectura a 450 nm. Se utilizaron estándares de carotenoides de β-caroteno con 96 % de pureza, β-Criptoxantina con 97 % de pureza, luteína a 94 % de pureza, y zeaxantina a 97 % de pureza. Después del análisis en el equipo, se llevó a integrar cada uno de los picos de interés obtenidos en el cromatograma para determinar el área bajo la curva y poder determinar las concentraciones de cada uno de los compuestos de interés.

### **3.3. Objetivo 3.**

#### **3.3.1. Siembra controlada**

La siembra controlada se llevó a cabo con los cuatro genotipos que presentaron las mayores concentraciones de metabolitos secundarios en hoja, basándose en la concentración de compuestos fenólicos y antocianinas cuantificables; los genotipos fueron Rojo Olinalá (RO), Rojo Mochitlán (RM), Reventador Café (RC), Amarillo Nanche Dulce (AND), se añadió como testigo el híbrido Asgrow 7573 (As).

Los genotipos previamente mencionados se sembraron en macetas con una mezcla de 17% de arena, 2% de gallinaza y 81% de suelo de Marín, utilizando un diseño completamente al azar con arreglo en parcelas subdivididas como se observa en el Cuadro 6. En este arreglo de tratamientos, temperatura ambiente (TA) y temperatura inducida (TI) se utilizaron como parcela grande, los tratamientos de

riego (R) y sequía (S) como parcela mediana y los genotipos como parcela chica, generándose en total 20 tratamientos. Se utilizaron dos macetas como unidad experimental. El ensayo se sembró el día 23 de agosto del 2019, haciendo uso de 120 macetas. El análisis de suelo presentó un pH de 7.9, una conductividad de 3.4 dS/m, 3.4836 mg/L de Potasio, 3.9192% de materia orgánica, 0.3374% de Nitrógeno (método Kjeldahl) y un suelo de tipo arcilloso-arenoso.

**Cuadro 6. Representación de los tratamientos y sus variables obtenidas.**

TA		TI	
R	S	R	S
TA R RM	TA S RO	TI R RM	TI S RM
TA R RO	TA S RO	TI R RO	TI S RO
TA R AND	TA S AND	TI R AND	TI S AND
TA R RC	TA S RC	TI R RC	TI S RC
TA R As	TA S As	TI R As	TI S As

Se realizó un modelado en 3D, presentado en la Figura 7, donde se observa cómo se acomodaron los cinco genotipos; el tratamiento de riego (verde) y sequía (naranja), así como el tratamiento de temperatura ambiente (de lado derecho) y temperatura inducida (de lado izquierdo dentro de la estructura).

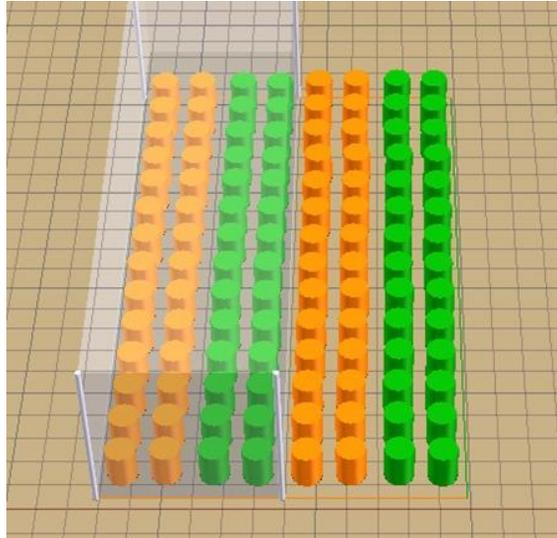


Figura 6. Representación en 3D donde se observan los tratamientos de riego y sequía, así como de temperatura ambiente y calor inducido.

En relación con la aplicación de los tratamientos, el tratamiento de sequía se llevó a cabo mediante la ausencia de riego a partir de los 40 días después de la siembra, con una duración de siete días. Se utilizó también una película de plástico en la parte superior de las macetas para disminuir la pérdida por evaporación del agua contenida en el suelo (Figura 7).



Figura 7. Película plástica sobre la parte superior del suelo en la maceta con la finalidad de disminuir las pérdidas por evaporación de agua.

Durante todo el ciclo se registró la humedad del suelo de cada uno de los cilindros. La humedad del suelo se determinó mediante la lectura con una sonda portátil M-300 (Aquaterr, California, EE. UU.).

Para el caso del tratamiento de calor inducido, se realizó mediante el uso de una cámara de solarización controlada, la cual consistió en una estructura de 10 m x 3 m x 2.5 m, cubierta con plástico de invernadero de 180 micras. Se aplicó el tratamiento durante 4 h entre los intervalos de 10 de la mañana a 2 de la tarde, durante 7 días para posteriormente agregar 1 tratamiento 15 días después (Figura 8). Se registraron las temperaturas dentro y fuera de la cámara de solarización durante el periodo del tratamiento.



Figura 8. Tratamiento con cámara de solarización controlada para aplicar los tratamientos de estrés por temperatura. Se registraron las temperaturas dentro y fuera de la cámara durante el tratamiento.

### **3.3.2. Toma de datos fenotípicos y fisiológicos**

Los datos fenotípicos que se consideraron en el experimento para el cumplimiento de este objetivo fueron: días a floración masculina y días a floración femenina (DFm,

DFf respectivamente) calculada como el número de días transcurridos desde la siembra hasta cuando el 50 % de las espigas se encontraban en antesis; altura de planta (Alt), medida desde el suelo hasta la parte más alta de la planta, utilizando para ello una cinta métrica y el peso de mazorca se determinó pesando la mazorca entera sin hojas de cada una de las plantas.

Para los datos fisiológicos se midió la transpiración antes y después de los tratamientos en las etapas V10 y V14 respectivamente; asimismo se consideraron los datos de temperatura de la hoja. Las fechas respectivas fueron el 7 de octubre de 2019 y 15 de octubre de 2019. Este análisis se realizó mediante el uso de un porómetro de estado constante Li-1600 (Lincoln, Nebraska, EE. UU.).

Para determinar el efecto de los tratamientos de temperatura y sequía sobre los fotosistemas (Fv/Fm), se utilizó la cámara para medir fluorescencia de la hoja (Fluorómetro 6400-40; LI-COR 6400, Lincoln, Nebraska, EE. UU.); se utilizó la cámara de luz LED 6400-02 (LI-COR, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) proporcionando luz artificial y estimando las mediciones de la tasa fotosintética (Photo), conductancia estomática (Cond), concentración de CO<sub>2</sub> intercelular (Ci) y transpiración (TMmol); ambos sensores forman parte del IRGA LI-6400 como el que se observa en la Figura 9. Estas mediciones se realizaron al finalizar los tratamientos el día 15 de octubre del 2019.



Figura 9. Sistema de medición de fotosíntesis Li-6400 con cámara de luz LED modelo 6400-02 por Li-Cor, Nebraska, EE. UU.

### 3.3.1 Determinación de compuestos bioactivos

Para la determinación de compuestos bioactivos se realizó la toma de muestras de hoja, lígula y vaina en bolsas de aluminio como se observa en la Figura 10, en las etapas, preantesis, y postantesis, tomando como la etapa antesis, 52 días después de la siembra identificada como V14, y postantesis 15 días después de la floración masculina identificada como R1.

En la toma de muestras de la fecha 15 de Octubre del 2019, se consideró la sexta hoja completa de cada una de las dos plantas de cada unidad experimental. Posteriormente, las muestras se liofilizaron (Labconco Freezone™ Freeze-Dry Systems; Kansas City, MO, EE. UU.), para después ser molida.



Figura 10. Toma de muestra de tejido foliar almacenada en bolsas de aluminio para su transporte en hielera con dióxido de carbono en estado sólido (hielo seco).

Se realizó una extracción de compuestos fenólicos totales con ligeras modificaciones basándose en lo reportado por Vazquez-Olivo (2019), la cual consistió en pesar una muestra de 0.25 g de materia seca, a la cual se le agregaron 5 mL de metanol al 80%, manteniéndolo en agitación a 300 RPM usando un agitador magnético en cada tubo, durante dos horas. Posteriormente, la muestra se centrifugó a 5000 RPM a una temperatura de 4 °C, durante 15 minutos (centrifuga Labnet Hermle Z400K; New Jersey, EE. UU.), para después pasar a un tubo Falcon limpio, previamente etiquetado para su recepción. Se realizaron diluciones para obtener datos dentro de las curvas de calibración preparadas.

Posterior a esto, se realizaron las pruebas de Folin-Ciocalteu, método de DPPH<sup>•</sup> y método de ABTS<sup>•+</sup>, basándose en la metodología propuesta por Hernández *et al.* (2018) con modificaciones. Para la realización de la prueba de Folin-Ciocalteu se añadieron 125  $\mu$ L de muestra en cada uno de los tubos previamente rotulados, para después añadir 125  $\mu$ L del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Toluca, México), y 125  $\mu$ L de Carbonato de Sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; grado reactivo), dejando en incubación

en un baño de calor seco (Labnet Accublock Digital Dry Bath, New Jersey, EE. UU.) durante 30 minutos, para después agregar 1 mL de agua destilada y pasar a leer a 750 nm en un espectrofotómetro Barnstead-Turner SP 830 Plus (Barnstead Thermolyne Corporation, Minesotta, EE. UU.) utilizando una curva de Ácido Gálico (Sigma Aldrich, Toluca, México).

La técnica DPPH<sup>•</sup> se llevó a cabo agregando 50 µL de muestra en cada tubo previamente etiquetados, para después agregar 950 µL una solución de DPPH<sup>•</sup> (Sigma Aldrich, Toluca, México) en metanol con una concentración de 6 µM, para pasar a leer a 517 nm en un espectrofotómetro Barnstead-Turner SP 830 Plus (Barnstead Thermolyne Corporation, Minesotta, EE. UU.) utilizando una curva de Ácido Gálico. La técnica de ABTS<sup>•+</sup> se realizó mediante una solución del reactivo ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; # Cas. 30931-67-0) a 7 mM con persulfato de potasio (grado reactivo) a 2.45 mM, los cuales se activaron 12 horas previas a la medición de capacidad de donación de electrones. Se diluyo la solución en etanol hasta obtener una absorbancia de  $0.700 \pm 0.002$  a 734 nm en un espectrofotómetro Barnstead-Turner SP 830 Plus (Barnstead Thermolyne Corporation, Minesotta, EE. UU.). Al tener la solución se agregaron 50 µL de muestra directamente a la celdilla, y 950 µL de reactivo diluido de ABTS<sup>•+</sup> y se utilizó una curva de calibración del reactivo Trolox ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, # Cas. 53188-07-1; Sigma-Aldrich, Missouri, EE. UU.).

### **3.4. Análisis estadístico**

Para los análisis estadísticos de los objetivos 1 y 2 se utilizó un modelo de bloques completos al azar, mientras que los análisis estadísticos del objetivo 3 se realizaron a través de un análisis de parcelas subdivididas, tomando como parcela grande la temperatura del aire, la parcela mediana como la humedad del suelo, y la parcela chica como los genotipos. Estos análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software InfoStat Versión 2017 (Córdoba, Argentina, 2019).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Objetivo 1

#### 4.1.1. Unidades Calor

Con los datos de temperatura colectados con el Datalogger se calcularon las Unidades Calor (GDD), con los cuales se generó el Cuadro 7, en el cual se observa que todos los genotipos estuvieron alrededor de las 1000 unidades calor para alcanzar la floración siendo los testigos comerciales los que reportaron los valores más bajos.

Cuadro 7. Unidades calor (GDD) para cada genotipo en etapa antesis y postantesis entre las fechas de 3 de Marzo de 2019 al 30 de Junio de 2019.

Genotipo	GDDAn (°C)	GDDPoAn (°C)
Negro Cualác (NC)	1060	1434
Rojo Mochitlán (RM)	990	1356
Rojo Olinalá (RO)	990	1356
Morado Mayalán (MM)	1095	1474
Amarillo Tremesino (AT)	1025	1395
Amarillo Liberaltepec (AL)	1095	1474
Amarillo Nanche Dulce (AND)	1078	1454
Amarillo Temalacatzinga (ATe)	1025	1395
Pepitilla (PE)	1007	1375
Costeño Ancho Campuzano (CAC)	1007	1375
Costeño Zacatepec (CZ)	1060	1434
Reventador Negro (RN)	1060	1434
Reventador café (RC)	1060	1434
Asgrow 7573 (AS)	972	1337
Pioneer P3057W (Pi)	972	1337

#### 4.1.2 toma de datos fenotípicos

Al realizar la evaluación de vigor visual se observó una diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los resultados obtenidos en 20 DDS y 60 DDS (Días después de la siembra) en todos los experimentos. En el Experimento 1, plasmado en el Cuadro 8, se observa como dos genotipos, Amarillo Tremesino y Rojo Olinalá, presentaron valores similares a los obtenidos en los testigos Asgrow 7573 (As) y Pioneer P3057W (Pi) en la etapa de vigor a 20 DDS (Vig20) con un valor de 46.5 unidades, a contraparte de lo que se observó para el genotipo Tabloncillo Morado (TM) el cual presentó el menor valor en la suma de rangos con 5 unidades. En la etapa de vigor a 60 DDS (Vig60) se observa como el genotipo Asgrow 7573 (As) cuenta con el mayor valor estadísticamente de 51 unidades, seguido de los genotipos Pioneer P3057W (Pi) y Rojo Mochitlán (RM) con valores entre 46 y 47.5 unidades, mientras que los de menor valor fueron los genotipos Tabloncillo Negro (TN), Tabloncillo Morado (TM) y Morado Hidalgo (MH) con una suma de rangos de 6 unidades. Se observa como los genotipos de mayor valor a excepción de los genotipos testigos, provienen de lugares parecidos climatológicamente a la localidad donde se llevó a cabo la siembra (Altitud, temperatura media, precipitación anual) (CICESE, 2020), por lo que esto pudo haber sido un factor clave en que estos genotipos se asimilen a los genotipos testigo. Así mismo, Santiago-López *et al.* (2017) menciona como las variedades requieren un proceso de adaptación para poder obtener el máximo potencial de los genotipos a utilizar, mostrando como las variedades de primera generación en el ambiente seleccionado presentan valores muy bajos,

comparándolo con variedades en un ciclo de selección avanzado, como sucedió con los diferentes genotipos utilizados en la evaluación de vigor visual del Experimento 2 y el Experimento 3, lo cual indica la importancia de llevar a cabo selecciones previas a la experimentación.

Cuadro 8. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, y el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 1.

Genotipo	Media de Rangos (Vig20)	Suma de Rangos (Vig20)	Media de Rangos (Vig60)	Suma de Rangos (Vig60)
NC	8.83	26.50 efghi	7.50	22.50 defg
RM	14.17	42.50 kl	15.83	47.50 mn
RO	15.50	46.50 l	13.83	41.50 klmn
MM	9.00	27.00 efghij	9.00	27.00 fgh
AT	15.50	46.50 l	12.67	38.00 ijklm
AL	12.00	36.00 hijkl	7.50	22.50 def
AND	6.83	20.50 def	9.67	29.00 fghi
ATe	11.50	34.50 hijk	11.17	33.50 hijk
Pe	12.83	38.50 kl	14.17	42.50 klmn
CC	7.67	23.00 defg	11.17	33.50 hijkl
CZ	8.83	26.50 efgh	9.83	29.50 fghij
RN	5.00	15.00 abcd	5.17	15.50 abcd
RC	6.17	18.50 de	5.17	15.50 abcde
TN	2.33	7.00 abc	2.00	6.00 ab
TM	1.67	5.00 a	2.00	6.00 ab
MH	2.17	6.50 ab	2.00	6.00 abc
As	15.50	46.50 l	17.00	51.00 n
Pi	15.50	46.50 l	15.33	46.00 mn

Letras diferentes indican diferencia significativa.

El Experimento 2, el cual se encuentra conformado por los genotipos mejorados foráneos a Nuevo León, se observó un comportamiento diferente, ya que se obtuvo una disminución en los valores obtenidos. En el Cuadro 9 se observa como en la etapa de Vig20, el genotipo Asgrow 7573 (As) presento el mayor valor estadístico

con 17.5 unidades, mientras que el de menor valor fue Ancho Mejorado V237 An (AM), presentando 4 unidades. En la etapa Vig60 se presentó el mismo comportamiento a diferencia de los valores, ya que se observó cómo Asgrow 7573 (As) presento 20 unidades, mientras que el genotipo Ancho Mejorado V237 An (AM) presento 4.5 unidades.

Cuadro 9. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, así como el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 2.

Genotipo	Media de Rangos (Vig20)	Suma de Rangos (Vig20)	Media de Rangos (Vig60)	Suma de Rangos (Vig60)
As	5.83	17.50 c	6.67	20.00 d
Pi	5.67	17.00 bc	5.17	15.50 bcd
AIS	4.00	12.00 bc	3.00	9.00 abc
AV	4.00	12.00 bc	2.83	8.50 ab
AM	1.33	4.00 a	1.50	4.50 a
BH	3.17	9.50 ab	4.33	13.00 bcd
ASL	4.00	12. bc	4.50	13.50 bcd

Letras diferentes indican diferencias significativas.

En el Cuadro 10 se plasman los genotipos para el Experimento 3, donde se observa como el genotipo Morado la Siberia (MS) presenta el menor valor de la suma de rangos en la etapa de Vig20, mientras que el de mayor valor estadístico fue el genotipo testigo Asgrow 7573 (As), caso similar en la etapa de Vig60 con diferencias de las unidades, donde se observa como el genotipo Morado la Siberia (MS) presento 8 unidades, mientras que el genotipo Asgrow 7573 (As) presento 35 unidades.

Cuadro 10. Valores obtenidos de vigor visual (Vig) a 20 (Vig20) y 60 (Vig60) DDS, basados en altura, extensión del dosel foliar, longitud de hoja individual, así como el daño causado por plagas, obtenidos por el método estadístico Friedman para el Experimento 3.

Genotipo	Media de Rangos (Vig20)	Suma de Rangos (Vig20)	Media de Rangos (Vig60)	Suma de Rangos (Vig60)
As	11.33	34.00 j	11.67	35.00 j
Pi	10.00	30.00 ghij	10.50	31.50 fghij
NP	2.83	8.50 ab	3.33	10.00 ab
RRC	7.17	21.50 cdefghi	8.50	25.50 efghij
MR	4.50	13.50 abcd	3.67	11.00 abcd
MJMB	7.17	21.50 cdefgh	7.50	22.50 efghi
Am	6.00	18.00 cdef	3.50	10.50 abc
MS	1.67	5.00 a	2.67	8.00 a
MPP	5.83	17.50 bcde	7.50	22.50 efgh
MPN	7.17	21.50 cdefg	7.17	21.50 cdef
MS	4.17	12.50 abc	4.83	14.50 abcde
MA	10.17	30.50 ghij	7.17	21.50 cdef

Letras diferentes indican diferencias significativas.

Algo que corrobora lo previamente dicho es el genotipo Blanco Hualahuises (BH), el cual presentó un buen comportamiento en cuanto a su desarrollo a 60 DDS, ya que este genotipo se ha sembrado y seleccionado durante bastante tiempo previo en Nuevo León, contando con una ventaja previa ante los otros genotipos.

En los datos fenotípicos se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en casi todas las características fenotípicas que se evaluaron a excepción de altura de mazorca (AltMaz), como se plasma en el Cuadro 1A. Esto es similar a lo presentado por Martínez-Sánchez, *et al.* (2018), en cuyo trabajo se presentó el comportamiento de poblaciones de maíz entre diferentes localidades de siembra, las cuales presentan diferencias en variables como altura de planta, altura de mazorca, días a

floración, longitud de espiga, y rendimiento de grano como producto de esta adaptación. En el Cuadro 2A se presentan las medias de las variables fenotípicas determinadas. En la Figura 11 se presenta el comportamiento de la variable Alt (altura), la cual presenta al genotipo Asgrow 7573 (As) como el de menor tamaño 217.11, mientras que el genotipo Negro Cualác (NC) fue el superior con 273.82 cm, mientras que la variable altura de mazorca (AltMaz) se observa como igual estadísticamente.

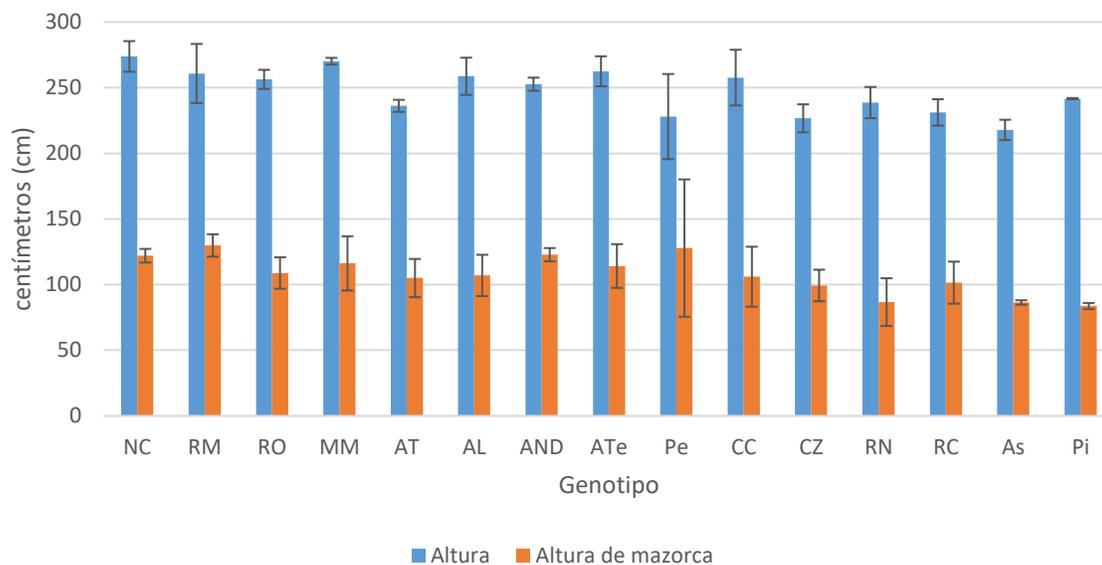


Figura 11. Variables de altura en los genotipos del experimento 1, donde se plasman en azul los valores para altura de planta (Alt) y en naranja los valores de altura de mazorca (AltMaz).

La variable de días a floración femenina (DFF), plasmada en la Figura 12, muestra como los genotipos Asgrow 7573 (As), Pioneer P3057W (Pi), Costeño ancho Campuzano (CC), Pepitilla (Pe), Amarillo Temalacatzinga (ATe), Rojo Olinalá (RO) y Rojo Mochitlán (RM) forman el grupo de genotipos precoces, con valores que oscilan entre 73 a 79 días después de la siembra, mientras que el genotipo más

tardío fue el Amarillo Liberaltepec (AL) con 103 días a floración. En días a floración masculina (DFM) los genotipos testigos Asgrow 7573 (As) y Pioneer P3057W (Pi) presentaron características precoces con 73 días después de la siembra, mientras que los más tardíos fueron los genotipos Morado Mayanalán (MM) y Amarillo Liberaltepec (AL) con 80 días a floración masculina.

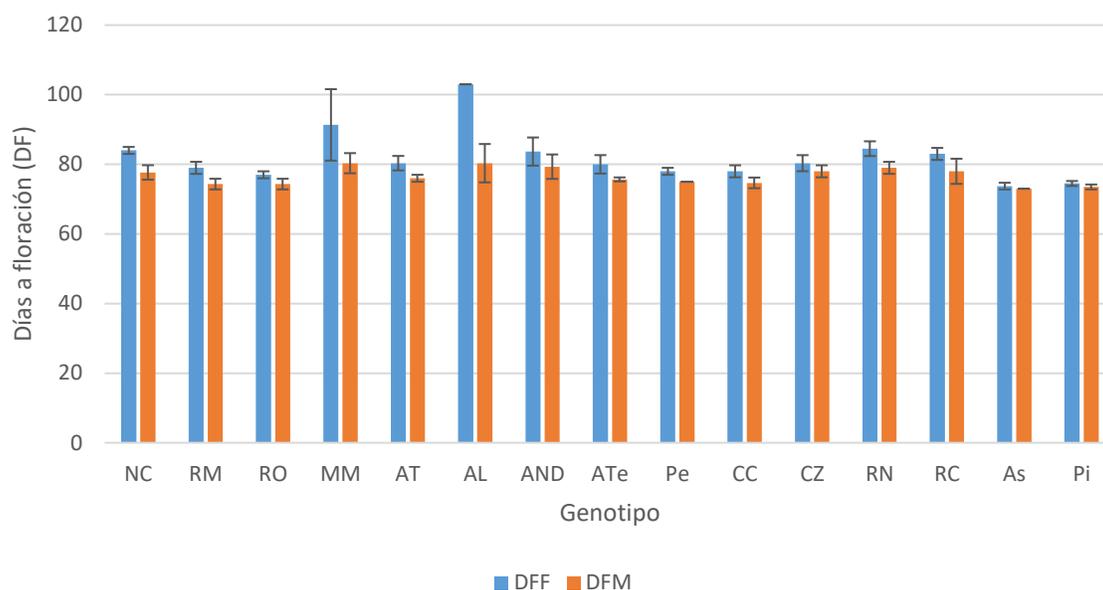


Figura 12. Variables de días a floración en los genotipos del experimento 1 donde se plasman en azul los días a floración femenina (DFF) mientras que en naranja los días a floración masculina (DFM).

El peso de mazorca es una variable de gran importancia, por lo que se plasma en la Figura 13. El genotipo Asgrow 7573 (As) tuvo el mejor comportamiento con 301.67 g, mientras que el de menor valor fue el genotipo Morado Mayanalán (MM) con 51.48 g. El genotipo Amarillo Liberaltepec (AL), debido a lo tardío de su ciclo, no logro producir mazorca, por lo que el rendimiento de grano fue cero. La fenotipificación de los materiales genéticos utilizados en el Experimento 2, mostraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en el 83% de las variables como se

observa en el Cuadro 3A, a excepción de los resultados para la altura (Alt) y longitud de mazorca (LMaz).

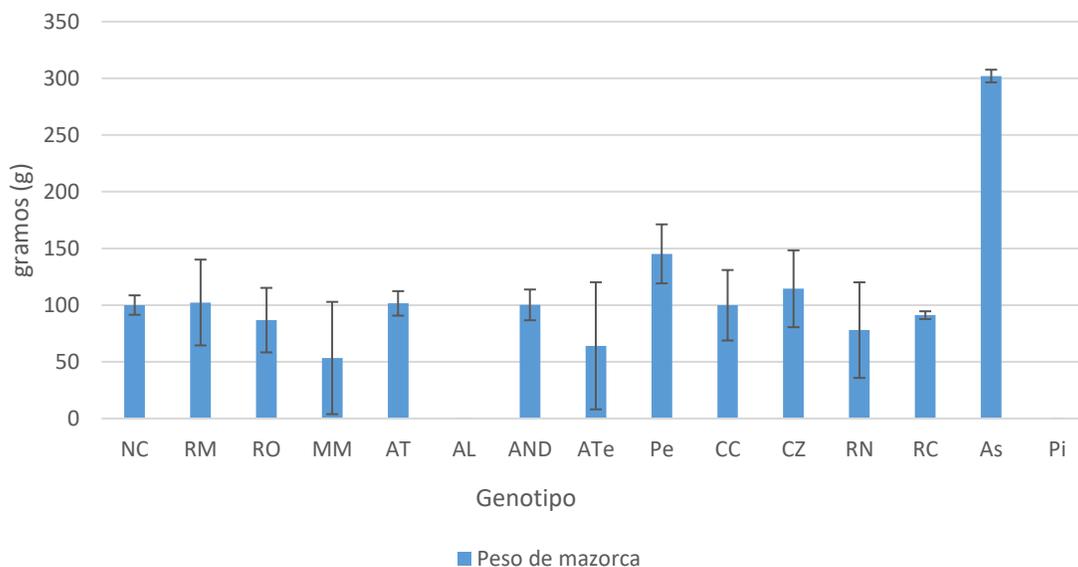


Figura 13. Variable de peso de mazorca para los genotipos del Experimento 1, donde se plasma en azul los valores para el peso de mazorca (PMaz).

En el cuadro de medias presente en el Cuadro 4A, se puede observar cómo el 71% de los genotipos se encuentran en un grupo con mayor altura de mazorca (AltMaz), sin embargo, se observa que el genotipo Blanco Hualahuises (BH) se distinguió entre los materiales numéricamente, con un valor de 129.33 cm, mientras que los testigos comerciales (As, Pi) presentaron bajas alturas de la mazorca con valores de 81 y 84 cm respectivamente. En cuanto los días a floración se observó que en el caso de los testigos comerciales Asgrow 7573 (As) y Pioneer P3057W (Pi) presentaron características precoces al tener menor días a floración femenina (DFM) con valores de 74 y 74.5 días respectivamente, mientras que en los otros genotipos se observan comportamientos tardíos para floración femenina (DFF), así como precocidad en la floración masculina (DFM). La longitud de espiga (LE) se

observó con superioridad en el genotipo Ancho Mejorado (50.5 cm), mientras que la que mostro menor longitud fue el Blanco Hualahuises (40.17 cm), y las condiciones de grano fueron superadas por el genotipo Asgrow 7573 (As), comparadas con el resto. Posteriormente, los cuadrados medios, como se observa en el Cuadro 5A, presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre todas las fuentes de variación para el Experimento 3, aunque se observó diferencia altamente significativamente en las variables peso de mazorca (PMaz), peso de grano (PG) y rendimiento de grano (RG), demostrando la alta variabilidad de los genotipos obtenidos.

Basándose en el cuadro de medias presentado en el Cuadro 6A, se puede observar como el genotipo testigo Asgrow 7573 (As) es diferente significativamente del Rojo Refugio de Cedillo (RRC), presentando menor altura (Alt) como 221.3 y 277.33 cm respectivamente, así como en altura de mazorca (AltMaz) se observó un valor superior en el genotipo Puerto Piñones (PP) con 150.7 cm. Se cree que la floración femenina (DFF) se vio afectada por la adaptación climática que a la que se sometieron los genotipos, observándose como llego a presentarse floración femenina (DFF) hasta el día 96.4 en el genotipo Rojo Refugio de Cedillo (RRC), así como el genotipo Morado Refugio (MR) no presento inflorescencia femenina. En la floración masculina (DFM) se observa en el genotipo más tardío a los 87 DDS. La longitud de espiga (LE) presento diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ), aunque el 33% se observó superior al resto, con medidas de hasta 50 centímetros, mientras que las variables fenotípicas del grano se observó un grupo con los valores más altos

incluyendo al testigo Asgrow 7573 (As), Negro Perú (NP), Amarillo (Am), y Morado la Soledad (MS).

Uno de los principales factores para la variación en los resultados fenotípicos puede ser la altitud de donde proviene cada uno de los genotipos, como lo presento Santiago-López *et al* (2017) quien demostró diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en las poblaciones evaluadas, las cuales provenían de diferentes nichos ecológicos, teniendo altos índices de variación debido a las condiciones agroclimatológicas en las que se desenvuelven (Arellano-Vázquez, 2014). De igual forma se debe mencionar, como la heterogeneidad de los genotipos se puede dar debido a diversos mecanismos influyentes en la variación fenotípica presentada (Gonzalez-Huerta, *et al.*, 2009).

#### **4.2.1. Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos en tejido foliar**

En el Experimento 1 se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ), presentadas en el Cuadro 7A, en las variables correspondientes a concentración de antocianinas totales en vaina en etapa anthesis (ATAnV), en concentración de compuestos fenólicos totales (CFT) y capacidad inhibitoria de radicales en etapa anthesis y postanthesis en hoja (AnH, PoAnH); así mismo se reportaron diferencias para concentración de compuestos fenólicos totales en vaina (AnV, PoAnV), mientras que no se observó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en las variables de concentración de compuestos fenólicos etapa postanthesis en vaina (CFTPoV), así como la capacidad inhibitoria de radicales en vaina (CIdRAnV, CIdRPoAnV), en ambas etapas.

La comparación de medias para el Experimento 1, plasmada en el Cuadro 11, muestra como los valores de compuestos bioactivos presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en las variables de Antocianinas totales en etapa antesis en vaina (ATAnV), compuestos fenólicos en hoja en etapa antesis y postantesis (CFTAnH, CFTPoAnH), en capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis y postantesis en hoja (CIdRAnH, CIdRPoAnH), así como en concentración de compuestos fenólicos de vaina en etapa antesis. El 73% de los genotipos no presentaron concentración de antocianinas totales en vaina (ATAV), sin embargo, para el resto, el genotipo Rojo Mochitlán (RM) presento una concentración estadísticamente diferente con  $21.8 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  equivalente Cianidin-3-Glucosido (EqC3G), seguido con diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) por el genotipo Rojo Olinalá (RO) con  $17.41 \text{ mg EqC3G} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Los valores obtenidos para Antocianinas totales presentan valores similares a los presentados por Efeoğlu (2009), así como valores inferiores a los presentados por Gu (2018), esto debido a que los presentados por Efeoğlu se trató de genotipos con tonalidad verde y manchas pequeñas que indican la presencia de antocianinas, mientras que los presentados por Gu son genotipos que se encuentran pigmentados en su totalidad. Comparando lo que se observa en los resultados de estos experimentos y los de los autores previamente mencionados, la presencia de antocianinas se puede deber a cuestiones genéticas, las cuales pueden ser potenciadas por estrés abiótico, aunque su presencia se puede asociar también a deficiencia de fosforo, acompañado de un desarrollo considerablemente bajo, como el observado por Isah (2019).

Cuadro 11. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 1, maíces foráneos a Nuevo León.

Genotipo	ATAnV (mg·100g <sup>-1</sup> C3G)	CFTAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CIdRAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	CFTAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )
NC	0 d	216.23 cdef	493.08 abc	353.24 bc	672.96 abcde	171.7 a
RM	21.8 a	184.56 ef	577.7 ab	326.23 bc	832.19 ab	153.36 ab
RO	17.41 b	328.11 abcd	509.96 abc	406.67 bc	778.4 abcd	99.24 cd
MM	3.67 d	199.31 def	532.11 abc	496.88 ab	504.77 def	123.68 abc
AT	0 d	233.99 bcdef	540.11 abc	460.28 ab	592.43 bcdef	106.45 bcd
AL	0 d	153.55 f	532.46 abc	390.89 bc	855.2 ab	127.55 abc
AND	0 d	226.55 cdef	618.54 a	399.48 bc	907.89 a	165.41 ab
AT	0 d	360.31 ab	460.02 bc	699.64 a	646.82 abcdef	182.39 a
Pe	0 d	235.65 bcdef	429.15 c	186.52 c	428.25 ef	99.14 c
CC	0 d	303.78 abcde	516.41 abc	385.13 bc	516.65 cdef	141.15 abc
CZ	0 d	230.03 bcdef	491.16 abc	487.12 ab	572.97 bcdef	123.44 abc
RN	0 d	345.74 abc	482.68 bc	336.46 bc	384.66 f	101.13 cd
RC	9.92 c	274.22 abcdef	514.71 abc	269.52 bc	899 a	98.34 cd
As	0 d	338.63 abc	439.22 c	456.87 ab	740.85 abcd	141.9 abc
Pi	0 d	382.37 a	423.78 c	355.24 bc	791.82 abc	120.74 abc

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). ATAnV= Antocianinas totales etapa antesis en vaina; CFTAnH= Compuestos fenólicos totales etapa antesis en hoja; CFTPoAnH= Compuestos fenólicos totales etapa postantesis en hoja; CIdRAnH= Capacidad antioxidante etapa antesis en hoja; CIdRPoAnH= Capacidad antioxidante etapa postantesis en hoja, CFTAnV= Compuestos fenólicos totales etapa antesis Vaina.

Para el caso de la concentración de compuestos fenólicos en etapa antesis (CFTAH), el 46.6% de los genotipos presentaron concentraciones superiores, con el Pioneer P3057W (Pi) concentrando mayor cantidad con 382.37 mg EAG·100g<sup>-1</sup>, mientras que el Amarillo Liberaltepec (AL) fue el que presentó los valores más bajos estadísticamente con 153.55 mg EAG·100g<sup>-1</sup>, esto es observado en la Figura 14, donde se presentan las concentraciones para la etapa antesis y postantesis de los compuestos fenólicos totales para el Experimento 1.

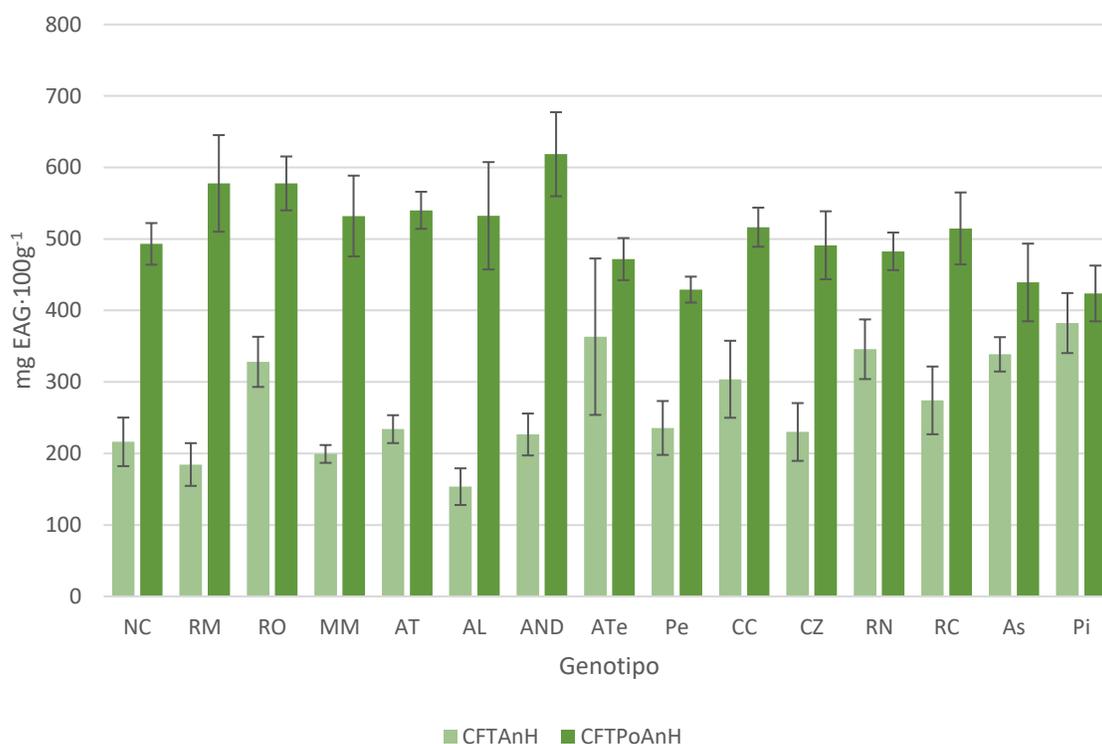


Figura 14. Representación gráfica de los resultados obtenidos para compuestos fenólicos en hoja en etapa antesis y postantesis. CFTAnH: Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CFTPoAnH: Compuestos fenólicos totales en etapa postantesis en hoja.

Con relación a la mayor capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis (CIdRAnH) se observó que el 33% de los genotipos presentaron mayor capacidad

de forma significativa, teniendo al genotipo Amarillo Temalacatzinga (AT) como el superior con  $618.54 \mu\text{mol EqT}\cdot\text{g}^{-1}$ ; el 60% de los genotipos sin diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), presentaron bajas capacidades inhibitorias de radicales, siendo de menor capacidad el genotipo Pepitilla (Pe), con  $186.2 \mu\text{mol EqT}\cdot\text{g}^{-1}$  en tejido foliar.

Se observa como en la etapa postantesis existe un incremento abrupto en las concentraciones de compuestos fenólicos totales (CFTPoAnH) en los genotipos, observándose que el 60% de los genotipos con mayor concentración no presentan diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ); sin embargo Amarillo Nanche Dulce (AND) presento la mayor concentración ( $618.54 \text{ mg EAG}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ), mientras que los genotipos con menor concentración fueron los testigos, Asgrow 7573 (As) y Pioneer P3057W (Pi) presentando  $439.22$  y  $423.78 \text{ mg EAG}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , respectivamente, así como Pepitilla (Pe) con  $429.15 \text{ mg EAG}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . La mayor capacidad inhibitoria de radicales (CIdRPoAnH) se dio en el 60% de los genotipos, observándose a Amarillo Nanche Dulce (AND) y Reventador Café (RC) con los valores más altos ( $907.89 \mu\text{mol EqT}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $899 \mu\text{mol EqT}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente).

En el Experimento 2 se presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en diferentes análisis, como se observa en el Cuadro 8A, obteniendo resultados para la concentración de compuestos fenólicos totales en etapa antesis y postantesis en hoja así como para capacidad inhibitoria de radicales de hoja en etapa postantesis, concentración de compuestos fenólicos totales en vaina en etapa antesis, y en capacidad inhibitoria de radicales en tejido de vaina en etapa postantesis.

En el Cuadro 12 se plasma la comparación de medias para genotipos del Experimento 2, donde se observa que para hoja, los CFTA en el genotipo Azul San Luis presenta resultados comparables a los obtenidos para los genotipos testigo, así como a Ancho Mejorado, y Blanco Hualahuises, y que pertenecen al mismo grupo estadístico.

En compuestos fenólicos en hoja para etapa postantesis fue diferente, observándose como los genotipos Azul in situ y Blanco Hualahuises fueron los de mayor valor estadísticamente diferente, aunque en la capacidad inhibitoria de radicales en hoja para la etapa postantesis, presento valores discordantes a los de compuestos fenólicos, presentándose como inferior el genotipo Blanco Hualahuises. Así mismo se observó una diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en los valores de compuestos fenólicos totales en vaina para la etapa de antesis, donde se observa un comportamiento similar a los compuestos fenólicos totales en hoja de la etapa antesis, destacando como Arrocillo Veracruzano (AV) vuelve a ser el menos estadísticamente.

En el Experimento 3, plasmado en el Cuadro 9A, se observa cómo se presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en las variables de concentración de compuestos fenólicos en hoja en etapa antesis y postantesis, así como en la capacidad inhibitoria de radicales en etapa post antesis; mientras que en tejido de vaina, se observó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la comparación de medias para la variable concentración de compuestos fenólicos en etapa antesis, así como en la capacidad inhibitoria de radicales en etapa postantesis.

Cuadro 12. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 2, maíces mejorados.

Genotipo	CFTAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	CFTAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CIdRPoAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )
As	349.46 a	404.9 cd	784.45 a	162.42 a	199.29 ab
Pi	366.79 a	397.06 cd	797.88 a	113.67 bc	257.34 a
AS	173.14 c	488.49 ab	515.97 ab	102.69 bc	168.87 abc
AV	217.90 bc	354.57 d	582 ab	75.72 c	189.92 abc
AM	271.12 abc	467.26 bc	514.45 ab	118.04 abc	233.71 a
BH	303.86 ab	571.65 a	391.58 b	126.81 ab	84.81 c
ASL	350.14 a	279.73 d	536.21 ab	161.02 a	109.61 bc

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). CFTAH= Compuestos fenólicos totales etapa antesis en hoja; CFTP AH= Compuestos fenólicos totales etapa postantesis en hoja; CAAH= Capacidad antioxidante etapa antesis en hoja; CAPAH=Capacidad antioxidante etapa postantesis en hoja, CFTAV= Compuestos fenólicos totales etapa antesis Vaina; CFTP AV= Compuestos fenólicos totales etapa postantesis en vaina; CAAV= Capacidad antioxidante etapa antesis en vaina; CAPAV= Capacidad antioxidante etapa postantesis en vaina.

Las variables capacidad inhibitoria de radicales en hoja en etapa antesis (CIdRAnH), concentración de compuestos fenólicos en etapa postantesis (CFTPoAnV) y capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en tejido de vaina (CIdRAnV) son iguales estadísticamente, posiblemente a que se han observado afecciones en la capacidad inhibitoria por afecciones exógenas a la planta, ya sea mediante sustancias aplicadas o estrés abiótico (Ghasemi-Pirbalouti, 2017; Toscano, 2019).

Para el caso del experimento de los maíces nativos de Nuevo León, en el Cuadro 13 se observa la comparación de medias, donde se observan diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en compuestos fenólicos totales en etapa postantesis en hoja y vaina, así como en capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja.

Cuadro 13. Comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para cada uno de los genotipos del Experimento 3, maíces nativos de Nuevo León.

Genotipo	CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	CFTPoAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )
As	624.87ab	819.71a	293.48abc
Pi	508.38ab	771.6ab	331.39ab
NP	486.33ab	669.43ab	208.11bc
RRC	415.51b	389.06b	200.48bc
MR	483.74ab	488.74ab	304.65abc
MJMB	357.71b	496.79ab	334.16ab
Am	470.36ab	744.39ab	311.38abc
MS	494.94ab	418.01b	408.63a
PP	412.24b	546.47ab	143.19c
MPN	494.84ab	437.89ab	338.62ab
MS	725.27a	488.2ab	260.53abc
MA	555.07ab	483.33ab	292.46abc

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). CFTAH=Compuestos fenólicos totales etapa antesis en hoja; CFTPAH=Compuestos fenólicos totales etapa postantesis en hoja; CAAH= Capacidad antioxidante etapa antesis en hoja; CAPAH=Capacidad antioxidante etapa postantesis en hoja, CFTAV= Compuestos

fenólicos totales etapa antesis Vaina; CFTPAV= Compuestos fenólicos totales etapa postantesis en vaina; CAAV=Capacidad antioxidante etapa antesis en vaina; CAPAV=Capacidad antioxidante etapa postantesis en vaina.

Los resultados de los análisis de compuestos fenólicos y capacidad inhibitoria de radicales en antesis fueron similares a los reportados por Vázquez-Olivo (2019) pero considerablemente superiores a los que se presentaron en etapa postantesis. Los resultados de concentración de compuestos fenólicos totales en etapa antesis en vaina mostraron que el 62.5% de los genotipos son estadísticamente iguales entre los de mayor valor, siendo superados por el genotipo Arrocillo Temalacatzinga con 182.39 unidades.

En el trabajo presentado por Amarowicz (2010) es notable que el estrés causado por bajas temperaturas reduce la concentración de compuestos fenólicos, esto posiblemente a las afecciones metabólicas presentadas por este tipo de estrés. Xue-Jun (2013) demostró que la altitud es un factor abiótico con alta probabilidad de alterar diversos procesos metabólicos, por lo que se puede pensar que cualquier estrés abiótico genera un cambio en las concentraciones de compuestos fenólicos, así como la actividad antioxidante de estos.

En la literatura se han reportado comparaciones de los compuestos fenólicos en etapas de desarrollo; sin embargo, no se ha demostrado la relación posible entre ellos (Guajardo, 2018; Vlasisavljević, 2017). Con base en lo mencionado se realizó un análisis de correlación, presentado en el Cuadro 14, entre las horas calor (GDD) y los compuestos fenólicos en etapa antesis y postantesis (CFTAnH, CFTPoAnH).

Cuadro 14. Coeficientes de correlación entre los compuestos fenólicos y gdd.

	CFTPreantesis	CFTPostantesis	GDDPreantesis	GDDPostantesis
CFTPreantesis	1			
CFTPostantesis	-0.34*	1		
GDDPreantesis	-0.42**	0.3*	1	
GDDPostantesis	-0.38**	0.33*	0.94**	1

(\*)  $P < 0.05$ ; (\*\*)  $P < 0.01$ .

Se observa como los genotipos con menor requerimiento de GDD Preantesis y postantesis presentan una mayor concentración de compuestos fenólicos, los cuales pueden estar involucrados en las ventajas de este tipo de genotipos, entre las cuales encontramos la función de “escape” a factores del medio ambiente, por lo cual, cuenta con un metabolismo acelerado comparado con genotipos tardíos, reduciendo su exposición a factores bióticos y abióticos (Rodríguez, 1990) así mismo, estos genotipos se asocian a una menor duración del área foliar, aumentando la senescencia de las hojas y disminuyendo la tasa fotosintética; sin embargo, presentan una mayor velocidad de producción de materia seca, comparada con las plantas tardías (Santos, 2010).

#### 4.2.3. cuantificación de antocianinas en grano mediante HPLC

Se realizaron análisis de compuestos de interés en grano, buscando concentraciones de antocianinas, así como de carotenoides; esto debido a que existe una amplia gama de artículos que mencionan su importancia para la salud humana (Lago, 2014; Luo *et al.*, 2020; Rosales *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2017).

El análisis de varianza del Experimento 1, como se plasma en el Cuadro 10A, maíces foráneos a Nuevo León, presenta diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en las

variables Cianidin-3-Glucosido, Pelargonidin-3-Glucosido, Peonidina-3-Glucosido, así como del complejo Provitamina A, pero estadísticamente iguales, las variables para luteína y zeaxantina, causada por sus bajos valores en sus cuadrados medios.

En los Experimentos 2 y 3, maíces mejorados y maíces de Nuevo León, no se presentaron suficientes repeticiones para poder realizar análisis estadísticos válidos. En el Cuadro 15 se observa la comparación de medias para las variables evaluadas en grano del Experimento 1, en las cuales se puede ver como superior en concentraciones de Cianidin-3-Glucosido al genotipo Negro Cualác (NC), con 60.88  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de este compuesto. Así mismo se observa como este genotipo presenta alta concentración en Peonidin-3-Glucosido, aunque presento una concentración menor de Pelargonidin-3-Glucosido, siendo superado estadísticamente por el genotipo Morado Mayanalán (MM), con 21.6  $\mu\text{g}/\text{mg}$  lo cual difiere con el comportamiento típico, en el cual se observa a cianidin-3-glucosido como el compuesto mayoritario, con un aproximado de 75% (Salinas, 2005), mostrando la importancia de la caracterización de los pigmentos de genotipos de interés con la finalidad de explotar sus beneficios a la salud humana.

El complejo ProVitaminaA tuvo presencia en el 60% de los genotipos, entre los cuales se presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), observándose el genotipo Amarillo Nanche Dulce (AND) como superior con 2.72  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , aunque se presentó en el mismo grupo estadístico que los genotipos Amarillo Tremesino (AT), Pepitilla (Pe), y Asgrow 7573 (As). El genotipo Amarillo Nanche Dulce (AND) también presento los valores más altos en el complejo ProVitaminaA, al compararse con el genotipo CML-297, utilizado como indicador de referencia, y con los resultados

Cuadro 15. Comparación de medias para las diferentes variables evaluadas de los componentes bioactivos en grano del Experimento 1, enfocándose en las variables Cianidin-3-Glucosido, Pelargonidin-3-Glucosido, Luteína, Zeaxantina y el complejo Provitamina A.

Genotipo	Cianidin-3-Glucosido (mg/g)	Pelargonidin-3-Glucosido (mg/g)	Peonidin-3-Glucosido (mg/g)	Luteína (µg/g)	Zeaxantina (µg/g)	ProVitA (µg/g)
NC	60.88 a	6.41 ab	6.02 a	0	0	0
RM	3.75 b	2.01 b	0	0	0	0
RO	1.08 b	1.29 b	1.19 b	0	0	0
MM	12.71 ab	21.60 a	2.61 ab	0.07	0.23	0.82 b
AT	0	0	0	0.61	1.31	2.14 ab
AL	0	0	0	0	0	0
AND	0	0	0	0.86	1.92	2.72 a
ATe	0	0	0	0	0	0
Pe	0	0	0	0.56	1.17	1.21 ab
CC	0	0	0	0.15	0.33	0.99 b
CZ	0	0	0	0.26	0.54	1.10 b
RN	2.24 b	1.24 b	0	0.33	0.82	1.15 b
RC	2.38 b	0	0	0.42	0.81	0.84 b
As	0	0	0	0.23	0.55	1.29 ab
Pi	0	0	0	0	0	0

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

presentados por Muzhingí (2011), cuyos valores fueron inferiores, por lo que se considera necesario trabajos de mejoramiento genético enfocados a la biofortificación del maíz, con la finalidad de otorgar un mayor valor alimenticio, así como sus beneficios contra aflatoxinas en la mazorca, ayudando en la preservación de genotipos nativos con interés alimenticio.

### 4.3. Objetivo 3.

#### 4.3.1. Siembra controlada.

Se monitorearon los datos de humedad del suelo con muestreos periódicos como se observan en el Cuadro 16, donde se presentan los datos en % de humedad en temperatura ambiente (TA) y temperatura inducida (TI), la diferencia entre riego (R) y sequía (S) fue de aproximadamente un 6 % entre ambos tratamientos de temperatura.

Cuadro 16. Porcentaje de humedad presente durante el estrés por sequía en el experimento de macetas controladas.

Fecha	Tratamiento			
	TA R (%)	TA S (%)	TI R (%)	TI S (%)
Lunes 7 de octubre	81.47	86.33	85.52	82.36
Jueves 10 de octubre	83.81	85.33	86.36	87.56
Lunes 14 de octubre	89.53	83.13	90.21	84.96

TA= Temperatura ambiente; TI= Temperatura inducida; R= Riego, S= Sequía.

De esta misma manera, se observa en el Cuadro 17, los datos de temperatura registradas durante el tratamiento de calor inducido utilizando la cámara de solarización, en la cual se observa un aumento de las temperaturas, y una acumulación de °C acumulados.

Cuadro 17. Condiciones de temperatura añadida por el tratamiento de la cámara de solarización controlada.

Fecha	Temp exterior (°C)	Temp interior (°C)	Diferencia (°C)	Tiempo (hr)	Total (°C)	Total acumulado (°C)
09/10/2019	31	40	9	2	18	18
10/10/2019	33	45	12	4	48	66
11/10/2019	28	38	10	2	20	86
14/10/2019	30	38	8	4	32	118
15/10/2019	29	40	11	4	44	162
16/10/2019	30	39	9	4	36	198
17/10/2019	35	45	10	4	40	238
30/10/2019	32	47	15	4	60	298

#### 4.3.2. toma de datos fenotípicos y fisiológicos

Se llevo a cabo una evaluación fenotípica de los genotipos sometidos a los factores de humedad y temperatura. En el Cuadro 11A se presentan los cuadrados medios para las diferentes características fenotípicas como: días a floración masculina y femenina (DFF, DFM), altura de planta (Alt), altura de mazorca (AltMaz) y peso de mazorca (PMaz). Se utilizó peso de mazorca debido a una deficiencia en la fecundación de grano, esto debido a la falta de producción de polen por el aislamiento del experimento, así como por la afección del estrés por sequía, ya que como menciona Villalobos-González *et al.* (2017), el maíz, bajo estrés por sequía, presenta un aumento en los días a floración, tanto masculina como femenina y una afectación en el rendimiento de grano.

La comparación de medias entre genotipos en las diferentes mediciones fenotípicas se observa en el Cuadro 18, donde se aprecia la diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en

días a floración femenina (DFF), días a floración masculina (DFM), peso de mazorca (PMaz), altura (Alt) y altura de mazorca (AltMaz).

Cuadro 18. Comparación de medias para los genotipos en las diferentes características fenotípicas.

Genotipo	DFF	DFM	Pmaz	Alt	AltMaz
Asgrow 7573	56 c	53.75 b	64.71 a	116.29 c	43.95 b
Rojo Mochitlán	58.73 b	55.67 a	29.17 b	158.7 a	62.2 a
Rojo Olinalá	59.7 ab	55.83 a	21.75 b	153.17 ab	62.72 a
Reventador Café	60.6 ab	54.55 ab	42.63 ab	136.21 bc	55.42 ab
Amarillo Nanche Dulce	61.92 a	55.32 a	39.79 ab	147 ab	62.03 a

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Es notable como el genotipo testigo Asgrow 7573, presenta características de precocidad en sus días a floración comparado con el resto de los genotipos, presentando valores para días a floración femenina (DFF) y días a floración masculina (DFM) de 56 y 53.75 DDS, respectivamente. Estos valores fueron menores a los que presenta el genotipo Amarillo Nanche Dulce en DFF con 61.92 DDS, y con Rojo Mochitlán en floración masculina con 55.67 DDS. Para la variable peso de mazorca (PMaz) se observó la formación de dos grupos, entre los cuales se visualizó como el genotipo testigo Asgrow 7573, Reventador Café y Amarillo Nanche Dulce se encontraron en el mismo grupo con 64.71, 42.63 y 39.79 g, respectivamente. Para altura de planta (Alt) el genotipo testigo Asgrow 7573 obtuvo los menores valores con 116.29 cm, aunque en el mismo grupo estadístico estuvo el Reventador Café con 136.21 cm. Una situación similar se presentó para altura de mazorca (AltMaz) con valores de 43.95 para Asgrow 7573 y 55.42 cm para Reventador Café.

La humedad del suelo influyó en las características días a floración femenina (DFF), días a floración masculina (DFM) y peso de mazorca (PMaz), como es visible en el Cuadro 19, donde se observó en el tratamiento de riego que los DFF fueron menores comparados con los de sequía (56.6 días y 62.67, días, respectivamente) siendo esto un retraso altamente considerable; caso similar a lo sucedido en DFM en la cual, la condición de Riego presentó valores de 53.03 días, mientras que en sequía fue de 57.16. Para peso de mazorca el efecto fue contrario, ya que en sequía los valores fueron más bajos comparados con los de riego (19.39 g y 59.15 g, respectivamente).

Cuadro 19. Comparación de medias para el factor de humedad.

Humedad	DFF	DFM	Pmaz
Riego	56.6 b	53.03 b	59.15 a
Sequía	62.67 a	57.16 a	19.39 b

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

La variable de peso de mazorca (PMaz) presento una disminución significativa ante el estrés de sequía de aproximadamente 68%, similar a lo mencionado por Chaves-Barrantes (2016), quien menciona una disminución aproximada del 70% en los valores de rendimiento, causado por una afección a la fecundación gracias al secado de estigmas y polen por efecto del tratamiento de estrés.

En la Figura 15 se observa un gráfico que presenta el comportamiento del experimento de estrés por sequía y altas temperaturas, en el cual, se presenta un intervalo mayor entre días a floración masculina y femenina entre los tratamientos de riego y sequía, tal como lo explica Edmeades (1993), quien menciona un aumento entre estos intervalos a medida que el estrés por sequía se incrementa.

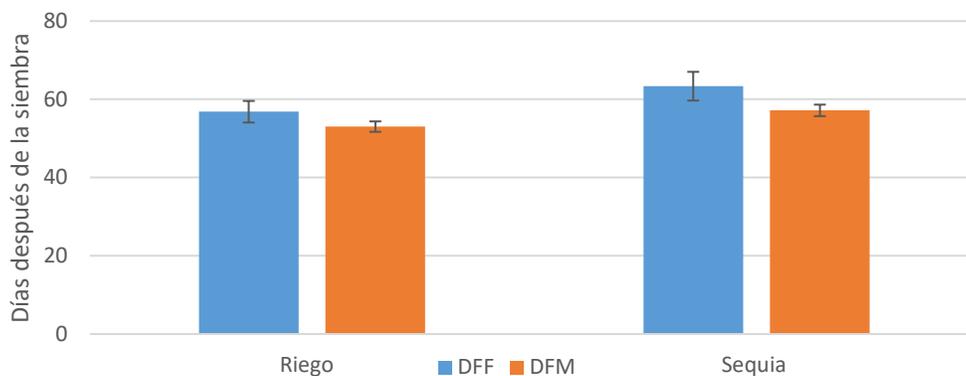


Figura 15. Representaciones graficas de los DFF (Días a floración femenina) y DFM (Días a floración masculina) entre riego y sequía.

En la interacción de los tratamientos de temperatura y humedad, se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ), tales como se plasman en el Cuadro 20, donde las diferencias son visibles en el tratamiento de temperatura inducida y sequía (TI S) con los valores más bajos en la variable Alt y AltMaz con una media de 109.85 cm y 45.03 cm respectivamente, mientras que los valores más altos se observaron en el tratamiento de temperatura ambiente y riego (TA R) con 178.77 y 72.63 cm en Alt y AltMaz, respectivamente. Hussain *et al.* (2019) muestra un comportamiento similar al observado en el experimento de estrés de sequía y altas temperaturas, donde se puede ver como el tratamiento control presento la mayor altura de planta y altura de mazorca, mientras que el tratamiento de temperatura ambiente y sequía (TA S), y posteriormente la temperatura inducida y sequia (TI S), fueron disminuyendo.

Cuadro 20. Medias de la interacción temperatura por ambiente.

	Doble Interacción	Alt	AltMaz
	TI S	109.85a	45.03a
	TA S	117.21a	46.92ab
	TI R	146.04b	57.54b
	TA R	178.77c	72.63c

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). TI = Temperatura inducida, TA = Temperatura ambiente, S = Sequía, R = Riego.

### 3.2 Evaluación fisiológica del experimento de sequía y altas temperaturas

Los análisis de varianza para las variables de temperatura de la hoja y transpiración obtenidas con el porómetro de estado constante mostraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ; Cuadro 12A) en los muestreos 1 y 2, para los factores temperatura y humedad. Temperatura de hoja en muestreo 1 (LeafTemp1) presentó una mayor afección bajo el tratamiento de temperatura inducida (TI) con 32.36 °C y en transpiración en etapa 2 (Trans2) con una reducción de 2.12  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  en temperatura ambiente con riego (TI R) reduciéndose a 0.08  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  en temperatura ambiente con sequía (TA S) para la interacción de temperatura por humedad como se observa en el Cuadro 21, observándose como, aunque la transpiración es mayor en el estrés de TI S, no fue lo suficientemente superior como para reducir la temperatura de la planta.

Cuadro 21. Comparación de medias para la interacción de temperatura por humedad determinados por el porómetro de estado constante.

Tratamiento	Riego		Sequía	
	$\bar{x}$ LeafTemp1 (°C)	$\bar{x}$ trans2 ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	$\bar{x}$ LeafTemp1 (°C)	$\bar{x}$ trans2 ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
TA	28.2 d	2.12 a	30.58 c	0.08 c
TI	32.36 b	0.44 b	33.09 a	0.38b

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

La transpiración y la temperatura de la hoja son indicadores de estrés por sequía, altas temperaturas, e incluso por salinidad, observándose comportamientos similares a los mencionados por De Azevedo Neto *et al.* (2004), quienes muestran una disminución en la transpiración y aumento en la temperatura de hoja al aplicar estrés, de la misma forma que lo explica Maricle (2007), quien observó el mismo comportamiento en hierba de pantano (*Spartina sp.*), presentándose un incremento de casi 4 °C al presentarse el estrés por sequía. La transpiración es de alta importancia para la temperatura de la hoja, ya que mediante este proceso se puede reducir la temperatura mediante la apertura de estomas, aunque se puede ver afectada en estrés por sequía, ya que este proceso hará que la planta pierda agua. Los efectos de la interacción causadas por los estreses por sequía y altas temperaturas para transpiración ( $T_{mmol}$ ) y Concentración interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ) se observan en la Figura 16, donde se presenta como el estrés abiótico disminuye la transpiración, pero cuenta con un aumento en el  $CO_2$  intracelular, esto debido al aumento de respiración, siendo el calor un factor de alta importancia (Hussain *et al.*, 2019).

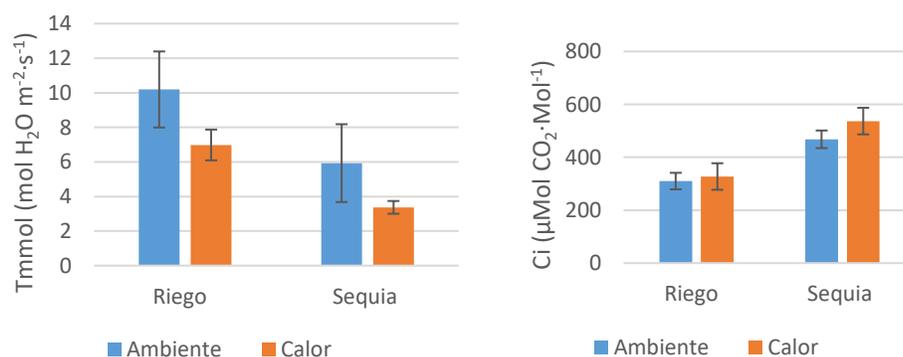


Figura 16. Transpiración y concentración de  $CO_2$  presente en la interacción entre el estrés de sequía y altas temperaturas.

En el Cuadro 13A se observan los cuadrados medios y los coeficientes de variación de cada una de las variables medidas [Trans ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), Cond( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ), Photo ( $\mu\text{Mol CO}_2\text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), Ci ( $\mu\text{Mol CO}_2\text{ Mol}^{-1}$ ) y Fv/Fm (MA)]; se aprecia que existió diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el 75% de las variables para temperatura, en el 100% de las variables para humedad, en el 12.5% de las variables para la interacción Condición de Humedad X Genotipo y en un 25% de las variables para la interacción Condición de Temperatura X Condición de Humedad, pero no se presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) para ninguna de las variables en las fuentes de variación de Genotipos, interacción Temperatura X Genotipo, ni tampoco para la doble interacción Genotipos X Condición de Humedad X Condición de Temperatura.

La Conductancia Estomática (Cond) se vio afectada por el tratamiento de temperatura reduciéndose de 0.29 a 0.22  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  para temperatura ambiente y temperatura inducida (TA, TI), respectivamente, tal como se presentan en el Cuadro 22. En este cuadro se observa una diferencia significativa de 0.07 ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ). La alta temperatura del tratamiento induce en la planta un cierre estomático limitando el flujo de agua al exterior y consecuentemente reduciendo la conductancia con la finalidad de reducir la pérdida de agua.

Cuadro 22. Comparación de medias presentadas para conductancia estomática en los tratamientos de temperatura.

Tratamiento	$\bar{x}$ Cond ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ )
TA	0.29b
TI	0.22a

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ).

En el Cuadro 23 se observa una comparación de medias para las variables Cond (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) y Fv/Fm (MA) que presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) para el factor de humedad. Se observa en la variable Cond una reducción de 0.34 a 0.16 (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) entre el tratamiento de riego (R) y sequía (S), ocasionado por el cierre estomático debido al efecto del estrés de humedad del suelo. Para el caso de la variable medida sobre el daño al Fotosistema II, determinado mediante la fluorescencia, se observa como el tratamiento de sequía, tuvo una disminución de la fluorescencia, interpretado como un efecto en el daño al este fotosistema, provocando una menor capacidad fotosintética de la planta.

Cuadro 23. Comparación de medias para las variables Cond y Fv/Fm para los tratamientos de riego y sequía.

Tratamiento	$\bar{x}$ Cond (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	$\bar{x}$ Fv/Fm (MA)
R	0.34 a	0.76 a
S	0.16 b	0.62 b

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). MA= Medida adimensional.

La conductancia estomatal es considerada como un mecanismo de escape al presentarse algún tipo de estrés abiótico como sucede en el tratamiento de estrés por temperaturas, manifestándose una disminución entre el tratamiento de temperatura ambiente y el de temperatura inducida (Lamaoui *et al.*, 2018). La diferencia para la conductancia estomatal entre el tratamiento de sequía y riego es debido a que la planta disminuye la conductancia para evitar la pérdida de agua (Prasad, 2008), lo cual se observa en la Figura 17. En esta misma figura se observa como el factor humedad

presenta una disminución considerable en su funcionalidad a través de la eficiencia cuántica de energía de excitación atrapada en el fotosistema II (PSII), teniendo un comportamiento similar al presentado por Efeoğlu (2009), quien muestra una disminución considerable en el coeficiente  $F_v/F_m$  al presentarse el estrés por sequía.

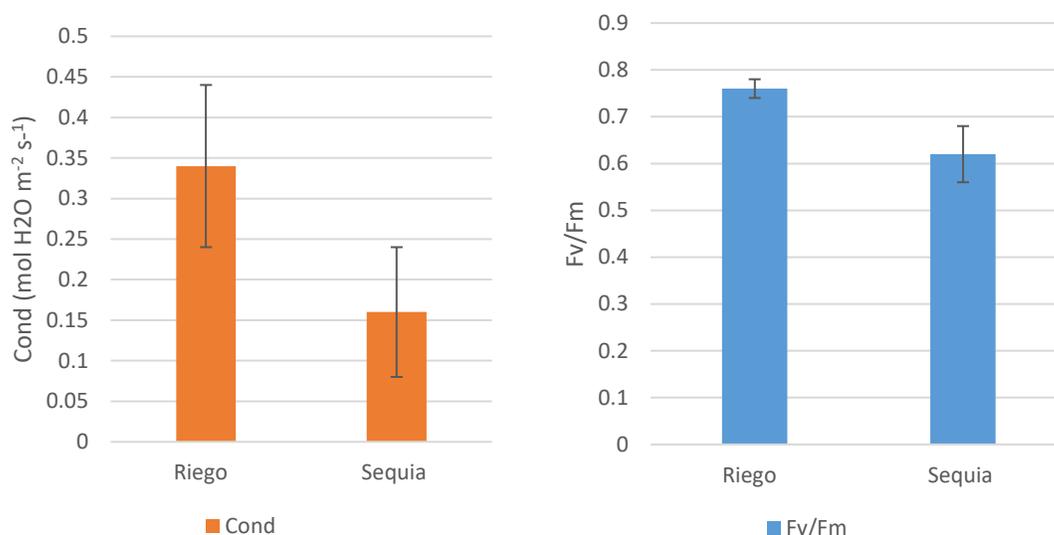


Figura 17. Comparación de medias de conductancia estomatal (Cond) y daño a fotosistemas (Fv/Fm) para riego y sequía.

En el Cuadro 24 se presenta la interacción Genotipos X Humedad para la variable Tasa Fotosintética (Photo). Se observa como los genotipos presentaron diferentes tasas de fotosíntesis ( $p \geq 0.05$ ) para riego, con el genotipo Asgrow 7573 (As) como el que presentó la tasa fotosintética más alta con  $15.44 \mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , seguido por Amarillo Nanche Dulce (AND) con  $14.38 \mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ; mientras que bajo condiciones de sequía el comportamiento de los genotipos fue el mismo pero con valores negativos, lo que significa que no hubo fotosíntesis durante el período de estrés severo, posiblemente debido al cierre estomatal ocasionado por la deficiencia de agua.

Cuadro 24. Interacción de genotipo por humedad con las medias para tasa fotosintética.

Riego		Sequía	
Genotipo	$\bar{x}$ Photo ( $\mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Genotipo	$\bar{x}$ Photo ( $\mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )
RC	9.8 b	As	-9.17
RM	9.91 b	RC	-9.05
RO	11.05 ab	RM	-8.91
AND	14.38 ab	RO	-8.82
As	15.44 a	AND	-8.62

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). RC= Reventador Café; RM= Rojo Mochitlán; RO= Rojo Olinalá; AND= Amarillo Nanche Dulce; As= Asgrow 7573.

Entre los valores encontrados para esta variable, hubo valores promedio similares a lo reportado por Xu (2020), aunque hubo genotipos que presentaron menores valores que los reportados por Wang (2018) y Leakey (2006), esto ya que los materiales vegetales cuentan con diferencias genéticas y morfológicas las cuales pueden tener una gran importancia en el proceso.

En el Cuadro 25 se presentan los valores de la doble interacción para Transpiración (Tmmol) y Concentración intracelular de  $\text{CO}_2$  (Ci). Solamente por efectos de sequía, (con temperatura ambiente) la transpiración disminuyó de 2.12 a 0.08 ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ); sin embargo, no hubo efectos de la sequía cuando se presentó la temperatura inducida ya que el comportamiento fue de 0.44 y 0.38 ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) para riego y sequía, respectivamente.

Cuadro 25. Medias con diferencia significativa para las interacciones entre temperatura y humedad.

Doble interacción	$\bar{x}$ Tmmol ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$\bar{x}$ Ci ( $\mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{Mol}^{-1}$ )
TA R	2.12 c	310.03 a
TA S	0.08 a	467.93 b
TI R	0.44 b	327.33 a
TI S	0.38 b	533.08 c

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Para el caso de  $C_i$ , los efectos de la condición de humedad fueron también importantes bajo temperatura ambiente, al pasar de 310.03 a 467.93 ( $\mu\text{Mol CO}_2\cdot\text{Mol}^{-1}$ ). Este aumento en los valores de  $C_i$  es debido al cierre estomatal ocasionado por la falta de humedad, incrementando la concentración interna debido a los bajos niveles de fotosíntesis. Los efectos de la temperatura fueron aún mayores, ya que bajo condiciones de temperatura inducida en riego, los valores fueron iguales estadísticamente a la condición de temperatura ambiente (327.33  $\mu\text{Mol CO}_2\cdot\text{Mol}^{-1}$ ); sin embargo, al pasar a la condición de sequía bajo este tratamiento de alta temperatura, los valores fueron los más altos estadísticamente, presentando valores de 533.08 ( $\mu\text{Mol CO}_2\cdot\text{Mol}^{-1}$ ); Esto demuestra que cuando se presentan los dos tipos de estrés, el metabolismo de la planta disminuye aún más, incrementando el  $\text{CO}_2$  interno por la falta de un proceso fotosintético activo.

La tasa de asimilación fotosintética y la concentración de  $\text{CO}_2$  intracelular se ven correlacionadas negativamente como se observa en la Figura 18, siendo un comportamiento similar al presentado por diversos autores en diferentes cultivos (Gao, 2016; Xu *et al.*, 2020; L. Zhang, 2012), aunque diferente a lo mencionado por Yin (2011), posiblemente por la baja concentración de  $C_i$  presente en sus análisis. Estas concentraciones se encuentran en la doble interacción, aunque estos pueden presentar valores no significativos al presentar estrés inducido debido a la variabilidad que se observa en los resultados como lo fue en el estudio de Cairns (2013).

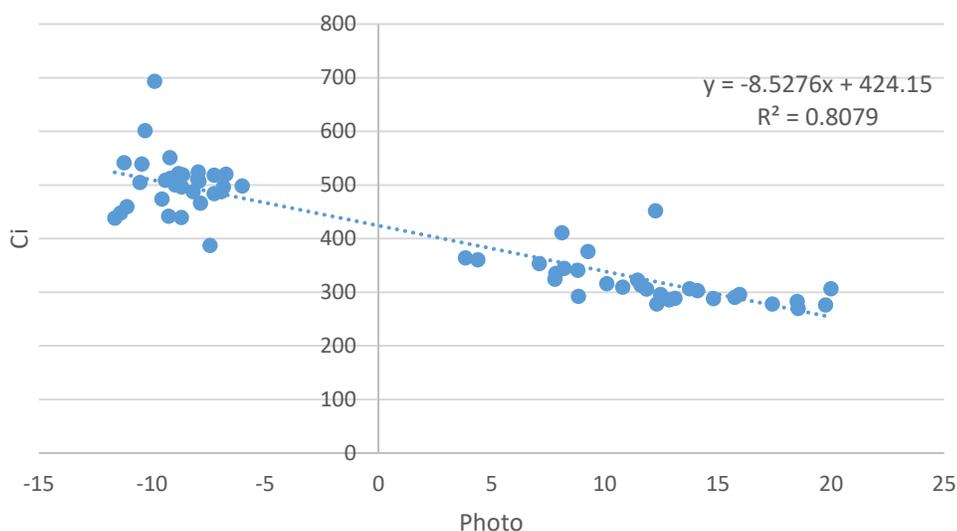


Figura 18. Análisis de regresión entre fotosíntesis (Photo) y concentración de CO<sub>2</sub> intracelular (Ci) (Coeficiente de correlación  $r = -0.90$ )

#### 4.3.3. Determinación de compuestos bioactivos

Las evaluaciones de compuestos bioactivos se llevaron a cabo mediante los métodos de Folin-Ciocalteu, donación de electrones a DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>. Se realizó un muestreo preantesis en el cual se observaron los cuadrados medios presentados en el Cuadro 14A, donde se visualizaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ). La prueba de Folin-Ciocalteu y DPPH<sup>•</sup> mostro diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en las fuentes de variación de genotipo, temperatura, humedad, interacción Condición de Humedad X Genotipo y la doble interacción, Genotipo X Temperatura Inducida X Humedad. En el Cuadro 15A, se muestra el cuadro de comparación de medias para la doble interacción para estas mismas variables. En forma gráfica, se presenta la Figura 19, en la cual se observa la cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT) por Folin-Ciocalteu mostro que los tratamientos con los valores más altos se presentaron en los

tratamientos de temperatura ambiente con riego (TA R) en el genotipo Reventador Café (RC) con 133.56 mg·EAG·100g<sup>-1</sup>, mientras que el genotipo Amarillo Nanche Dulce (AND) presenta los menores valores con 101.17 mg·EAG·100g<sup>-1</sup>, sin embargo los tratamientos de estrés, ya sea temperatura alta o sequía (TI y S, respectivamente) no se observa un patrón definido. En esta figura se observa que los valores más bajos para esta variable fueron para los tratamientos de temperatura inducida con riego en el genotipo Rojo Olinalá (RO R TI) con solo 53.96 mg·EAG·100g<sup>-1</sup> observado en el Cuadro 15A.

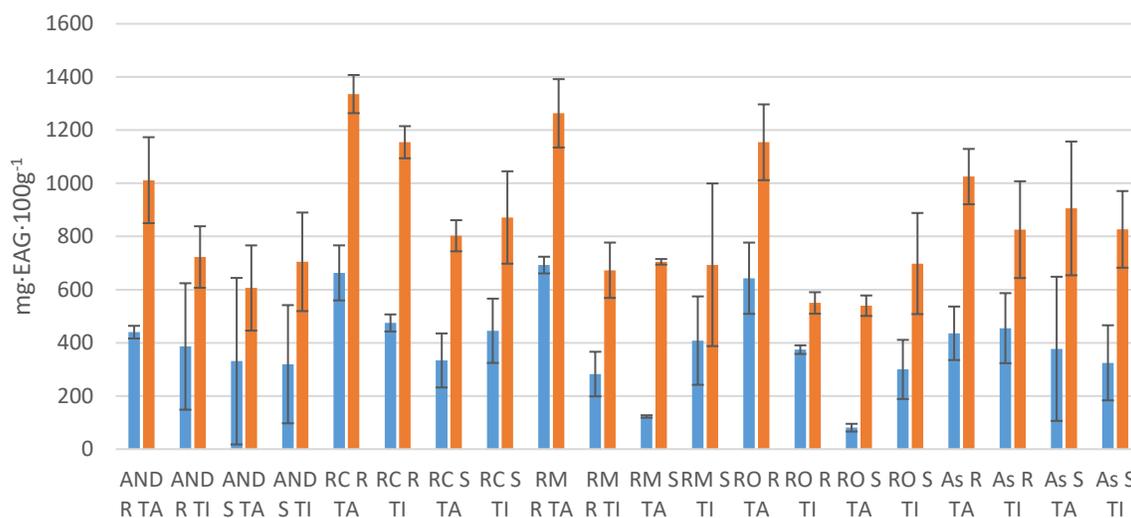


Figura 19. Cuantificación de compuestos fenólicos totales por Folin-Ciocalteu (CFT, color naranja) y de capacidad inhibitoria de radicales por el método de DPPH<sup>•</sup> (CIdR DPPH<sup>•</sup>, azul), para la triple interacción de tratamientos. AND = Amarillo Nanche Dulce, RC = Reventador Café; RM = Rojo Mochitlán; RO = Rojo Olinalá; As = Asgrow 7573; R = Riego; S = Sequía; TA = Temperatura ambiente; TI = Temperatura inducida.

Para la variable de capacidad inhibitoria de radicales por DPPH<sup>•</sup> (CIdR DPPH) se presentaron diferentes comportamientos, ya que la interacción con mayor concentración fue la de temperatura inducida con sequía en el genotipo Amarillo

Nanche Dulce (AND S TI) con  $107.34 \text{ mg} \cdot \text{EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , mientras que la de menor valor fue en temperatura inducida con sequia para el genotipo Reventador Café (RC S TI) con  $19.35 \text{ mg} \cdot \text{EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$  los cuales se presentan en el Cuadro 15A.

En la figura anterior se observó como el tratamiento de calor (TI) afecta de diferentes formas en las concentraciones de compuestos fenólicos totales (CFT) así como su capacidad inhibitoria de radicales DPPH $\cdot$  (CIdR DPPH), la cual viene correlacionado de forma positiva, observándose como no existe un patrón estable de la respuesta de cada uno de los genotipos, comparándose con lo mencionado por Toscano *et al.* (2019) quien menciona como este tipo de estrés puede afectar aumentando o disminuyendo la concentración de compuestos fenólicos totales basándose en la actividad presentada por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) la cual es la primer enzima de la vía de los fenilpropanoides (Godoy, 2002), aunque no son comparables con los resultados obtenidos por Ancillotti (2015) debido a que presento valores contrastes.

Los resultados de DPPH $\cdot$  presentaron una correlación positiva a los compuestos fenólicos totales con un coeficiente de correlación de  $0.37^{**}$ , como es observado en el Cuadro 16A, observándose aún con la presencia de compuestos no fenólicos, debido a la falta de una purificación para obtener resultados de alta precisión, los cuales pueden disminuir la actividad antioxidante como se observa en la interacción calor-sequía, presentando una correlación positiva, aunque no de valor significativo ( $P < 0.05$ ) (Sadeghi, 2015). La interpretación de resultados debe considerar que los métodos para determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad inhibitoria de radicales se basan en diferentes mecanismos de estabilización de radicales libres. Mientras que el

método de DPPH<sup>•</sup> funciona mediante la donación de un átomo de hidrogeno (Guija-Poma *et al.* 2015) el método de Folin-Ciocalteu se basa en la donación de un electrón reduciendo el radical y generando que la reacción obtenga la coloración azul característica (Blainski, 2013), ambos métodos generan un compuesto antioxidante inerte, como lo es un radical catión en el caso de donación de electrón y un radical fenoxil no reactivo en el caso del mecanismo de donación de átomo de hidrogeno (Leopoldini, 2004), pudiendo ser la razón por las diferencias entre tratamientos de estrés en las concentraciones de compuestos fenólicos totales, así como en la capacidad inhibitoria de radicales por método de DPPH<sup>•</sup>, siendo similares a los resultados obtenidos por Ghasemi (2017), donde se observa un incremento en la capacidad inhibitoria de radicales en el tratamiento de estrés por sequía, similar a lo sucedido en este experimento. Cabe mencionar que la eficiencia antioxidante de los compuestos fenólicos se ve afectada según el tipo de enlace que tenga al anillo aromático, lo cual se puede ver afectado por el estrés de altas temperaturas (Wang, 2019).

Los resultados para la prueba de capacidad de inhibición del reactivo ABTS<sup>•+</sup> son presentados en el Cuadro 26, donde se observan las medias en mg·EqT·100g<sup>-1</sup> en los tratamientos de ambiente (TA) y temperatura inducida (TI), los cuales mostraron valores de 125.34 y 156.2 mg·EqT·100g<sup>-1</sup> respectivamente, mientras que en el Cuadro 27 se observan las medias para el factor de humedad con valores de 129.34 mg·EqT·100g<sup>-1</sup> en condiciones de riego (R) y 154.61 mg·EqT·100g<sup>-1</sup> en condiciones de sequía (S).

Cuadro 26. Comparación de medias en la cuantificación por el método ABTS<sup>++</sup> para los tratamientos de calor inducido y temperatura ambiente.

Temperatura	$\bar{x}$ ABTS <sup>++</sup> (mg·EqT·100g <sup>-1</sup> )
TI	125.34 b
TA	156.52 a

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Cuadro 27. Comparación de medias en la cuantificación por el método ABTS<sup>++</sup> para los tratamientos de riego y sequía.

Humedad	$\bar{x}$ ABTS <sup>++</sup> (mg·EqT·100g <sup>-1</sup> )
R	129.34 b
S	154.61 a

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Se observa como las medias presentaron una diferencia de 25.27 mg equivalente Trolox para la prueba de ABTS<sup>++</sup> entre riego (R) y sequía (S), mostrándose un patrón similar al tratamiento de temperatura. La temperatura testigo, o ambiente, se observa con mayor cantidad de mg equivalente Trolox, comparado con el tratamiento de humedad, donde se observa que el tratamiento testigo, o riego, se presentó una cantidad menor considerable.

El método de ABTS<sup>++</sup> mostro como el estrés por calor disminuye la concentración de EqT en el extracto, mientras que se observa en aumento bajo el estrés por sequía tal como lo muestra Sarker (2018), quien observó que a medida que aumenta el estrés por sequía, la capacidad inhibitoria de radicales por el método de ABTS<sup>++</sup> se ve aumentada, mientras que el estrés por calor presenta una disminución en la capacidad inhibitoria, aunque se requieren análisis enzimáticos para poder comprender de forma correcta esta actividad (Soengas, 2018).

#### 4.3.4. Evaluación de compuestos bioactivos del experimento postantesis con tratamiento de temperatura.

La evaluación de compuestos bioactivos para el experimento de postantesis con temperatura ambiente e inducida (TA y TI) mediante la cámara de solarización controlada se realizó mediante el análisis de compuestos fenólicos totales por Folin-Ciocalteu, así como la capacidad de donación de electrones por el método de DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>, siendo posteriores a la primera toma de muestra por 15 días. En el Cuadro 17A se observan los cuadrados medios y solo presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) para la fuente de variación de temperatura en los tres análisis (Folin-Ciocalteu, DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>). En el Cuadro 28 se presentan las comparaciones de medias para cada una de las pruebas, donde se observan para las diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) para Temperatura, observándose como la prueba compuestos fenólicos totales por Folin-Ciocalteu (CFT) se vio afectado por este tratamiento, reduciendo la concentración de 79.95 a 60.48 mg·EAG·100g<sup>-1</sup>, mientras que para la capacidad inhibitoria de radicales por DPPH<sup>•</sup> (DPPH<sup>•</sup>) se redujo de 67.33 a 34.21 mg·EAG·100g<sup>-1</sup>, siendo un comportamiento similar en la prueba de capacidad inhibitoria de radicales por ABTS<sup>•+</sup> (ABTS<sup>•+</sup>) con una disminución de 82.86 mg·EqT·100g<sup>-1</sup>.

Cuadro 28. Comparación de medias para las pruebas de Folin-Ciocalteu, DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup> para los tratamientos de calor inducido y ambiente.

Temperatura	$\bar{x}$ Folin-Ciocalteu (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )	$\bar{x}$ DPPH <sup>•</sup> (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )	$\bar{x}$ ABTS <sup>•+</sup> (mg·EqT·100g <sup>-1</sup> )
TI	60.48 b	34.21 b	333.18 b
TA	79.95 a	67.33 a	416.04 a

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ).

Los comportamientos observados para las pruebas de compuestos fenólicos y capacidad inhibitoria de radicales pueden ser debido a la acumulación de compuestos tóxicos, como las ROS (Balla, 2007) en el tejido foliar de las plantas de maíz nativo, aunque se ha mencionado previamente que la formación de proteínas de choque térmico afecta en la disminución de síntesis de proteínas como la fenilalanina amonio liasa (PAL) la cual es fundamental para la ruta metabólica de los compuestos fenólicos (Kang, 2002). Es visible como las plantas en temperatura ambiente (TA) presentan una mayor concentración que las presentadas en el tratamiento de temperatura inducida (TI), similar a comportamientos previamente reportados (Soengas *et al.*, 2018).

Diferentes variables, llámese, fenotípicas, fisiológicas o bioquímicas de las plantas pueden presentar relación entre ellas, por lo que se realizó un análisis de correlación. Entre las variables consideradas se encuentra la concentración de CO<sub>2</sub> intracelular, la cual es un factor de alta importancia para la fisiología vegetal ya que en altas concentraciones estas pueden estimular las tasas fotosintéticas, aunque este comportamiento no es lineal. Al tener concentraciones de CO<sub>2</sub> intracelular en exceso, se pueden presentar problemas como la formación de ROS (Dusenge, 2019), generando problemas en variables como peso de mazorca (PMaz), daño a fotosistemas (Fv/Fm), tasa fotosintética (Photo), y en concentración de compuestos fenólicos totales (CFT), capacidad inhibitoria de radicales por DPPH<sup>·</sup> y ABTS<sup>•+</sup> (DPPH<sup>·</sup>; ABTS<sup>•+</sup>). En el Cuadro 29, donde se presentan los coeficientes de correlaciones, las cuales varían dependiendo del tratamiento, ya sea riego (R) o sequia (S), ya que cada uno de los tratamientos puede afectar de diferente forma en los factores fenotípicos, bioquímicos y fisiológicos (Avramova, 2015; Song, 2019).

Cuadro 29. Cuadro de correlaciones entre las variables determinadas para los tratamientos de riego y sequía.

		DFF	DFM	Alt	AltMaz	Pmaz	Tmmol	Cond	Photo	Ci	Fv/Fm	DPPH'	ABTS <sup>++</sup>	CFT
R	DFF	1												
	DFM	0.41*	1											
	Alt	0.42*	0.29	1										
	AltMaz	0.43*	0.37*	0.79**	1									
	PMaz	-0.25	-0.34	-0.10	0.0012	1								
	Tmmol	0.18	0.0014	0.57**	0.45**	0.01	1							
	Cond	0.14	0.01	0.33	0.24	-0.07	0.88**	1						
	Photo	-0.17	-0.13	-0.13	-0.13	0.32	-0.11	-0.19	1					
	Ci	0.04	-0.11	-0.08	0.02	-0.11	0.03	0.19	-0.61**	1				
	Fv/Fm	-0.09	-0.34	-0.19	-0.01	0.46*	-0.08	0.02	0.03	0.30	1			
	DPPH'	-0.30	-0.25	-0.24	-0.24	0.02	-0.11	0.03	-0.26	0.37*	0.03	1		
	ABTS <sup>++</sup>	0.03	0.02	0.17	0.17	-0.15	0.37*	0.24	-0.38*	0.03	-0.3	0.18	1	
	CFT	-0.02	-0.16	0.49**	0.45*	0.08	0.69**	0.46**	-0.16	-0.09	-0.23	0.14	0.73**	1
	S	DFF	1											
DFM		0.34	1											
Alt		0.06	0.38	1										
AltMaz		0.29	0.06	0.64**	1									
Pmaz		-0.30	-0.17	0.06	-0.04	1								
Tmmol		-0.13	-0.02	0.14	0.06	0.55**	1							
Cond		-0.12	0.02	0.07	0.02	0.47**	0.97**	1						
Photo		0.10	-0.01	0.06	-0.08	-0.24	-0.39*	-0.44**	1					
Ci		0.07	-0.12	-0.26	0.01	-0.34	-0.55**	-0.47**	-0.11	1				
Fv/Fm		0.16	-0.08	-0.11	-0.42*	0.24	-0.03	-0.06	-0.005	-0.05	1			
DPPH'		-0.10	-0.08	0.11	-0.02	0.65**	0.79**	0.76**	-0.15	-0.40*	0.17	1		
ABTS <sup>++</sup>		0.05	-0.34	0.09	-0.04	0.01	-0.16	-0.26	0.1	-0.02	0.34	0.11	1	
CFT		0.02	-0.16	-0.15	-0.32	0.44**	0.18	0.18	-0.18	-0.03	0.35	0.54**	0.52**	1

(\*) P<0.05; (\*\*) P<0.01. DFF: Días a floración femenina; DFM: Días a floración masculina; Alt: Altura; AltMaz: Altura de mazorca; PMaz: Peso de mazorca; Tmmol: Transpiración; Cond: Conductancia; Photo: Asimilación fotosintética; Ci; Concentración de CO<sub>2</sub> intracelular; Fv/Fm: coeficiente de daño a fotosistemas; DPPH': Capacidad inhibitoria mediante el método de DPPH'; ABTS<sup>++</sup>: Capacidad inhibitoria mediante el método ABTS<sup>++</sup>; CFT: Compuestos fenólicos totales.

Uno de los comportamientos de mayor interés en el cuadro previo es el de DPPH<sup>•</sup> contra la concentración de CO<sub>2</sub> intracelular, ya que se observa un coeficiente significativo en ambos casos, pero negativo y positivo en los tratamientos de riego y sequia (R y S) respectivamente, lo cual puede ser un indicio a que el comportamiento de la capacidad inhibitoria se basa en las condiciones de estrés para manifestarse de cierta forma. Caso similar a lo ocurrido con la transpiración (TMmol) en el estrés por sequia (S), así como contra la conductancia (Cond).

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo general del presente trabajo se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Existe relación entre el contenido de compuestos bioactivos y características fisiológicas involucradas a la resistencia a estrés por sequía y altas temperaturas, siendo las poblaciones de maíces nativos portadores de características de interés en variables fenotípicas, fisiológicas y de compuestos bioactivos, lo cual es de alta importancia para los programas de mejoramiento genético.

Con base a los objetivos específicos:

1. Las poblaciones nativas del país cuentan con características de interés para los programas de mejoramiento genético como lo son altura de planta, altura de mazorca, días a floración, rendimiento, y su asociación a las horas calor a las que son sometidos hasta su etapa de floración en Marín, Nuevo León.
2. Los compuestos bioactivos en tejido foliar presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los genotipos sembrados en campo gracias a la variabilidad de estos, así como que existe una relación inversa a las unidades

calor acumuladas, lo cual indica a los compuestos bioactivos como una característica de interés para el mejoramiento genético, no solo en grano, sino también en tejido foliar.

3. El estrés por sequía y altas temperaturas afecta de formas significativas ( $p \leq 0.05$ ) en variables como concentración de compuestos fenólicos y capacidad inhibitoria de radicales, transpiración, concentración de  $\text{CO}_2$  intracelular, tasa fotosintética, y variables fenotípicas.

## 5.2. Recomendaciones

Los compuestos bioactivos son piezas clave para implementar en la toma de decisiones para los programas de mejoramiento genético, sin embargo, se deja a disposición una lista de recomendaciones para corroborar lo previamente dicho.

1. Determinar la cantidad mínima de muestras necesarias para disminuir el error obtenido entre poblaciones y tratamientos en las variables fenotípicas, fisiológicas y bioquímicas.
2. Incluir análisis de expresión genética y con la finalidad de comprender en mayor aspecto las funciones de la intervención de los compuestos fenólicos como un mecanismo de defensa fundamental para el estrés por sequía y altas temperaturas, dando cabida a la búsqueda de marcadores moleculares que puedan facilitar la selección de genotipos de interés.
3. Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos de mayor interés mediante métodos especializados con equipos de cromatografía fina acoplados a un equipo de espectrometría de masas.

4. Analizar la presencia de radicales libres que puedan estar afectando en el buen funcionamiento de las plantas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera-Ortíz, M., Reza-Vargas, M. del C., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades Funcionales De Las Antocianinas. *BIOtecnia*, 13(2), 16. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- Ahumada-Cervantes, R., Velazquez-Angulo, G., Flores-Tavizon, E., Romero-Gonzalez, J. (2014). Impactos potenciales del cambio climático en la producción de maíz. *Investigación y Ciencia*, 61, 48–53.
- Amarowicz, R., Weidner, S., & Kosinska, A. (2010). Influence of Low-Temperature Stress on the Changes in the Composition of Grapevine Leaf Phenolic Compounds and their Antioxidant Properties. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 90–96.
- Ancillotti, C., Bogani, P., Biricolti, S., Calistri, E., Checchini, L., Ciofi, L., ... Del Bubba, M. (2015). Changes in polyphenol and sugar concentrations in wild type and genetically modified *Nicotiana langsdorffii* Weinmann in response to water and heat stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 97, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.09.012>
- Andrade-Andrade, G., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B. E., Arévalo-Galarza, L., & Caso-Barrera, L. (2018). Variación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos en *Vanilla planifolia* Jacks. Ex Andrews de la huasteca hidalguense, México. *Agrociencia*, 52(1), 55–66.
- Ángeles-Gaspar, E., Ortiz-Torres, E., & López, P. A. (2010). Caracterización Y Rendimiento De Poblaciones De Maíz Nativas De Molcaxac , Puebla Characterization and Yield Performance of Native Maize Populations From Molcaxac , Puebla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(4), 287–296.
- Arellano-Monterrosas, J. L. L. (2010). Integrated Water Resources Management To Reduce the Vulnerability To Land Sliding and Flooding in the Sierra Madre of Chiapas Watersheds. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 2(1), 23–37. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2010.05.006>
- Arteaga, M. C. (2016). Genomics Data Genomic variation in recently collected maize landraces from Mexico. *Genomic Data*, 7, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.11.002>

- Avramova, V., Abdelgawad, H., Zhang, Z., Fotschki, B., Casadevall, R., Vergauwen, L., ... Beemster, G. T. S. (2015). Drought induces distinct growth response, protection, and recovery mechanisms in the maize leaf growth zone. *Plant Physiology*, 169(2), 1382–1396. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00276>
- Balla, K., Zoltan, O. (2007). Heat stress induced changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat. *Cereal Research Communications*, 35, 1–4.
- Barchuk, A. H. (2000). Vigor de crecimiento y supervivencia de plantaciones de *Aspidosperma quebracho-blanco* y de *Prosopis chilensis* en el Chaco árido, 17–29.
- Beltrán, B., Estévez, R., Cuadrado, C., Jiménez, S., & Alonso, B. O. (2012). Base de datos de carotenoides para valoración de la ingesta dietética de carotenos, xantofilas y de vitamina a; utilización en un estudio comparativo del estado nutricional en vitamina a de adultos jóvenes. *Nutricion Hospitalaria*, 27(4), 1334–1343. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.4.5886>
- Bermúdez-Cardona, M. B., Filho, J. A. W., & Rodrigues, F. Á. (2015). Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in maize leaves infected with *Stenocarpella macrospora*. *Phytopathology*, 105(1), 26–34. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-14-0096-R>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Bravo, H. R., Copaja, S. V., Lamborot, M. (2013). Phytotoxicity of Phenolic Acids From Cereals. In J. Price, A., Keltin (Ed.), *Herbicides-Advances in Research* (pp. 37–49). IntechOpen. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/55942>
- Cairns, J. E., Crossa, J., Zaidi, P. H., Grudloyma, P., Sanchez, C., Luis Araus, J., ... Atlin, G. N. (2013). Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize. *Crop Science*, 53(4), 1335–1346. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.09.0545>
- Chalker-scott, L. (1989). Low Temperature Stress Physiology. In *Low Temperature Stress Physiology in Crops* (pp. 67–76). Boca Raton: CRC Press.
- Chaves-Barrantes, N. F., & Gutiérrez-Soto, M. V. (2016). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. II. Tolerancia y tratamiento agronómico. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 255. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21904>
- Conde, C. (2011). *México y el Cambio Climático Global* (Primer edi). Ciudad de México: SEMARNAT. Retrieved from <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Cecadesu/Libros/Mexico y el cambio climatico.pdf>
- Cosgrove-davies, M., & Goodfriend, L. (2008). *A System for Measurement of Photosynthesis in the Aerial Portion of a Plant*. Berkeley.

- Dai, J., Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- De Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., De Lacerda, C. F., Silva, J. V., Da Costa, P. H. A., & Gomes-Filho, E. (2004). Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(1), 31–38. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202004000100005>
- Dias, A. L. S., Rozet, E., Chataigné, G., Oliveira, A. C., Rabelo, C. A. S., Hubert, P., ... Quetin-Leclercq, J. (2012). A rapid validated UHPLC-PDA method for anthocyanins quantification from Euterpe oleracea fruits. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 907, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.09.015>
- Díaz Coronel, G. T., Sabando Ávila, F. A., Montes, S. Z., & Vásconez Montúfar, G. H. (2009). Evaluación productiva y calidad del grano de cinco híbridos de maíz (*Zea mays* L.). *Ciencia y Tecnología*, 2(1), 15–23.
- Doğru, A., & Ecem Bayram, N. (2016). BAZI MISIR (*Zea mays* L.) KÜLTİVARLARINDA KURAKLIK STRESİ TOLERANSI ÜZERİNE BİR ÖN ÇALIŞMA. *SAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(3). <https://doi.org/10.16984/saufenbilder.25673>
- Dusenge, M. E., Duarte, A. G., & Way, D. A. (2019). Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO<sub>2</sub> and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, 221(1), 32–49. <https://doi.org/10.1111/nph.15283>
- Edmeades, G. O. (1993). *Breeding for Drought Tolerance in Tropical Maize*. El Batán, Mexico: CIMMYT.
- Efeoglu, B., Ekmekci, Y., Cicek, N. (2009). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, 75, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.06.005>
- Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y., & Çiçek, N. (2009). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, 75(1), 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.06.005>
- Enrique, L. I. C., & Martínez, M. Y. (2013). *ECOLOGÍA , ADAPTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN ACTUAL*. Jalisco: INIFAP.
- Esparza, M. (2014). La Sequia y la escasez de agua en México. Situacion Actual y perspectivas futuras. *Revista de Historia y Ciencias Sociales*, 89, 193–219.
- Füzy, A., Kovács, R., Cseresnyés, I., Parádi, I., Szili-Kovács, T., Kelemen, B., ...

- Takács, T. (2019). Selection of plant physiological parameters to detect stress effects in pot experiments using principal component analysis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(5), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2842-9>
- Gao, T. T., Zheng, S. W., Zhou, X. H., Wang, D. X., & Lu, X. P. (2016). Photosynthetic Physiological Characteristics of *Gazania rigens* L. under Drought Stress. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 41(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/41/1/012027>
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 13(3), 27–36.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., & Goli, S. A. H. (2016). Effect of Drought Stress on Total Phenolic, Lipid Peroxidation, and Antioxidant Activity of *Achillea* Species. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(4), 796–809. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1909-3>
- Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae*, 217, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.031>
- Godoy, L., Salces, E. D., Revista, S., & Nacional, B. (2002). Actividad fenilalanina-amonio liasa (PAL) inducida por el PECTIMORF © en protoplastos de naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.). *Revista Del Jardin Botanico Nacional*, 23(2), 303–305.
- González-Cortés, N., Silos-Espino, H., Carlos, J., Cabral, E., Archivaldo, J., & Leonardo, C.-M. (2016). Características y propiedades del maíz ( *Zea mays* L .) criollo cultivado en Aguascalientes , México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(3), 669–680.
- Gould, K. S. (2004). Nature ' s Swiss Army Knife : The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 314–320.
- Grayer, R., Kimmins, F., Padgham, D., Harborne, J., Rao, R. (1992). Condensed tannin leves and resistances of Groundnut (*Arachis hypogaea*) against *Aphis craccivora*. *Phytochemistry*, 31(11), 3795–3800.
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. A., Ponce-Pardo, J., Z.-N. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1), 57–60. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2015.v15n1.08>
- Guillén-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S., & Paucar-Menacho, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigrovioláceo. *Scientia Agropecuaria*, 5, 211–217. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.05>

- Health, N. I. of. (2016). *Datos sobre la vitamina A. Office of dietary Supplements. USA.*
- Herbst, M., Kappen, L., Thamm, F., & Vanselow, R. (1996). Simultaneous measurements of transpiration, soil evaporation and total evaporation in a maize field in northern Germany. *Journal of Experimental Botany*, *47*(12), 1957–1962. <https://doi.org/10.1093/jxb/47.12.1957>
- Hernández, M., Ventura, J., Castro, C., Boone, V., Rojas, R., Ascacio-Valdés, J., & Martínez-Ávila, G. (2018). UPLC-ESI-QTOF-MS2-Based identification and antioxidant activity assessment of phenolic compounds from red corn cob (zea mays l.). *Molecules*, *23*(6). <https://doi.org/10.3390/molecules23061425>
- Hussain, H. A., Men, S., Hussain, S., Chen, Y., Ali, S., Zhang, S., ... Wang, L. (2019). Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40362-7>
- IFPRI. (2009). Cambio Climático: El impacto en la agricultura y los costos de adaptación. *Política Alimentaria. Informe*, 1–30. <https://doi.org/10.2499/0896295370>
- INIFAP. (1999). *Requerimientos Agroecologicos de Cultivos*. Mexico.
- Kang, H. M., & Saltveit, M. E. (2002). Antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity in chilled and heat-shocked rice (*Oryza sativa* L.) Seedlings radicles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(3), 513–518. <https://doi.org/10.1021/jf011124d>
- Kato, T. a., Mapes, C., Mera, L. . M., Serratos, J. a., & Bye, R. a. (2009). *Origen y diversificación del maíz. Origen y diversificación del maíz.*
- Król, A., Amarowicz, R., & Weidner, S. (2014). Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (vitis viniferal.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *36*(6), 1491–1499. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1526-8>
- Kulbat, K. (2016). The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnology and Food Sciences*, *80*(2), 97–108.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, *24*, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Lago, C., Cassani, E., Zanzi, C., Landoni, M., Trovato, R., & Pilu, R. (2014). Development and study of a maize cultivar rich in anthocyanins: Coloured polenta, a new functional food. *Plant Breeding*, *133*(2), 210–217. <https://doi.org/10.1111/pbr.12153>
- Lamaoui, M., Jemo, M., Datla, R., & Bekkaoui, F. (2018). Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation. *Frontiers in Chemistry*, *6*(February), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00026>

- Leahey, A. D. B., Uribelarrea, M., Ainsworth, E. A., Naidu, S. L., Rogers, A., Ort, D. R., & Long, S. P. (2006). Photosynthesis, productivity, and yield of maize are not affected by open-air elevation of CO<sub>2</sub> concentration in the absence of drought. *Plant Physiology*, *140*(2), 779–790. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073957>
- Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., & Toscano, M. (2004). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *Journal of Physical Chemistry A*, *108*(22), 4916–4922. <https://doi.org/10.1021/jp037247d>
- Liu, Y., Wang, T., Fang, S., Zhou, M., & Qin, J. (2018). Responses of morphology, gas exchange, photochemical activity of photosystem II, and antioxidant balance in cyclocarya paliurus to light spectra. *Frontiers in Plant Science*, *871*(November), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01704>
- Luo, H., He, W., Li, D., Bao, Y., Riaz, A., Xiao, Y., ... Liu, C. (2020). Effect of methyl jasmonate on carotenoids biosynthesis in germinated maize kernels. *Food Chemistry*, *307*(May 2019), 125525. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125525>
- Mangalvedhe, A., Danao, M. G., Paulsmeyer, M., Rausch, K., Singh, V., Juvik, J. (2015). Anthocyanin determination in different corn hybrids using near infrared spectroscopy. In *ASABE Meeting* (Vol. 7004, pp. 3–14). New Orleans: ASABE.
- Maricle, B. R., Cobos, D. R., & Campbell, C. S. (2007). Biophysical and morphological leaf adaptations to drought and salinity in salt marsh grasses. *Environmental and Experimental Botany*, *60*(3), 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.01.001>
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion Hospitalaria*, *17*(6), 271–278. [https://doi.org/10.3305/nutr\\_hosp.v17in06.3338](https://doi.org/10.3305/nutr_hosp.v17in06.3338)
- Martinez-Sanchez, J., Espinosa-Paz, N., Ramirez-Cordoba, A. L., Camas-Gómez, R., Villegas-Aparicio, Y. (2018). Expresión fenotípica y estabilidad en poblaciones de maíz nativo de chiapas. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, *5*(1), 1–11.
- Mesarović, J. Z., Dragičević, V. D., Mladenović Drinić, S. D., Ristić, D. S., & Kravić, N. B. (2017). Determination of free phenolic acids from leaves within different colored maize. *Journal of the Serbian Chemical Society*, *82*(1), 63–72. <https://doi.org/10.2298/JSC160512104M>
- Michaellek, S., Treutter, M., Lux-Endrick, A., Gutmann, M., Feutch, W., Geibel, M. (199AD). Role of flavan-3-ols in resistance of apple trees to *Venturia iaequalis*. *Fruit Breeding and Genetics*, *484*, 535–539.
- Mínguez Mosquera, M. I., Pérez Gálvez, A., & Hornero-Méndez, D. (2005). *Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples "colorantes" naturales*. *Agrocsic*. Madrid.

- Muzhingji, T., Gadaga, T. H., Siwela, A. H., Grusak, M. A., Russell, R. M., & Tang, G. (2011). Yellow maize with high  $\beta$ -carotene is an effective source of vitamin A in healthy Zimbabwean men. *American Journal of Clinical Nutrition*, *94*(2), 510–519. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.006486>
- ONU. (2019). Cambio Climatico. Retrieved from <https://www.un.org/es/sections/issues-depth/climate-change/index.html>
- Orians, C. M., Schweiger, R., Dukes, J. S., Scott, E. R., & Müller, C. (2019). Combined impacts of prolonged drought and warming on plant size and foliar chemistry. *Annals of Botany*, *124*(1), 41–52. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz004>
- Orozco, A. J., & Ayala, C. C. (2012). Efecto del Cambio Climático sobre la Fisiología de las Plantas Cultivadas: Una Revisión. *I.D.C.A Act & Div. Cient.*, *15*(1), 63–76.
- Ortas, L. (2008). *El cultivo del maíz: fisiología y aspectos generales*. Comercial de servicios AGRIGAN S.A. (Vol. 4). Retrieved from [https://rdu-demo.unc.edu.ar/bitstream/handle/123456789/703/Agrigan\\_boletín\\_7.pdf?sequence=1](https://rdu-demo.unc.edu.ar/bitstream/handle/123456789/703/Agrigan_boletín_7.pdf?sequence=1)
- Ozmianski, J., Kolniak-Ostek, J., Biernat, A. (2015). The Content of Phenolic Compounds in Leaf Tissues of. *Molecules*, *20*, 2176–2189. <https://doi.org/10.3390/molecules20022176>
- Palacios-Rojas, N. (2018). *Calidad nutricional e industrial de Maíz*. Mexico: CIMMYT. Retrieved from [conservacion.cimmyt.org/en/component/.../2022-calidad-de-grano-para-tecnicos-](http://conservacion.cimmyt.org/en/component/.../2022-calidad-de-grano-para-tecnicos-)
- Pietragalla, J., Pask, A. (2012). Stomatal Conductance. In *Canopy temperature, stomatal conductance and water relation traits* (pp. 15–17). Mexico: CIMMYT. <https://doi.org/10.1017/9781107339217.013>
- Prasad, P. V. V., Staggenborg, S. A., Ristic, Z., Ahuja, L. R., Reddy, V. R., Saseendran, S. A., & Yu, Q. (2008). Impacts of Drought and/or Heat Stress on Physiological, Developmental, Growth, and Yield Processes of Crop Plants. In *Advances in Agricultural Systems Modeling* (pp. 301–357). Kansas: ASA. <https://doi.org/10.2134/advagricsystmodel1.c11>
- Quiroz, D., & Merchan, M. (2016). *Guía para facilitar el aprendizaje en el manejo integrado del cultivo de maíz duro*. INIAP (Vol. 1). Retrieved from [http://sinagap.agricultura.gob.ec/infoproductor/maiz/descargas/buenas\\_practic\\_ as/iniap.pdf](http://sinagap.agricultura.gob.ec/infoproductor/maiz/descargas/buenas_practic_ as/iniap.pdf)
- Quispe-Jacobo, F., Arroyo-Condorena, K., Gorriti-Gutierrez, A. (2011). Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa - Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú* *VO - 77*, *77*(3), 205. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edssci&AN=edssci.S1810.634X2011000300006&lang=es&site=eds->

live&scope=site&custid=s4608367

- Ríos, E., Mejía, H., & Álvarez, S. (2009). Marcadores moleculares: una Revolución en la Zoología. *Ciencia*, 5–13. Retrieved from [http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/60\\_3/PDF/01-496-Marcadores-moleculares.pdf](http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/60_3/PDF/01-496-Marcadores-moleculares.pdf)
- Robles, A. A. C. (2007). Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. In *Biotechnología* (Vol. 14, pp. 253–262).
- Rodríguez, R., & Orellana, C. (1990). Mejoramiento del rendimiento y precocidad del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomía Mesoamericana*, 1, 15–19. <https://doi.org/10.15517/am.v1i0.25318>
- Rosales, A., Agama-Acevedo, E., Arturo Bello-Pérez, L., Gutiérrez-Dorado, R., & Palacios-Rojas, N. (2016). Effect of Traditional and Extrusion Nixtamalization on Carotenoid Retention in Tortillas Made from Provitamin A Biofortified Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(44), 8289–8295. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02951>
- Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azyzian Shermeh, O., & Akaberi, M. (2015). Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchestan, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.22038/ajp.2014.3415>
- SAGARPA. (2017). *Máiz de grano Blanco y Amarillo Mexicano. Planeación Agrícola Nacional 2017 - 2030* (Vol. I).
- Salinas-Moreno, Y., Garcia-Salinas, C., Coutiño-Estrada, B., Vidal-Martinez, V. A. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3-A), 285–294.
- Salinas-Moreno, Y., Saavedra-Arellano, S., Soria Ruiz, J., Espinoza Trujillo, E. (2008). Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*Zea mays* L.) amarillos cultivados en el estado de México. *Agricultura Técnica En México*, 34(3), 357–364.
- Salinas Moreno, Y., Sanchez, G. S., Hernandez, D. R., & Lobato, N. R. (2005). Characterization of Anthocyanin Extracts from Maize Kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43(9), 483–487. <https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>
- Santacoloma, V. L. E., & Enrique, G. J. (2012). Interrelación entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades físicoquímicas del suelo Interrelation between the content of secondary metabolites of species *Gliricidia sepium* a. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 53–62.
- Santiago-López, N., García-Zavala, J. J., Mejía-Contreras, A., Espinoza-Banda, A., Santiago-López, U., Esquivel-Esquivel, G., & Molina-Galán, J. D. (2017).

- Rendimiento de grano de poblaciones de maíz Tuxpeño adaptado a Valles Altos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(1), 147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.78>
- Santos, M., Segura, M., & Nústes, C. (2010). Growth analysis and source-sink relationships of four potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in the Zipaquirá Town (Cundinamarca, Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín*, 63(1), 5253–5266.
- Sarker, U., & Oba, S. (2018). Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of *Amaranthus* leafy vegetable. *BMC Plant Biology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1484-1>
- Savvides, A. M., & Fotopoulos, V. (2018). Two inexpensive and non-destructive techniques to correct for smaller-than-gasket leaf area in gas exchange measurements. *Frontiers in Plant Science*, 9(April), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00548>
- Sepúlveda-Jiménez, G. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Rev Mex Fitopatol*, 21(3), 355–363. Retrieved from <http://redalyc.uaemex.mx>
- Soengas, P., Rodríguez, V. M., Velasco, P., & Cartea, M. E. (2018). Effect of Temperature Stress on Antioxidant Defenses in *Brassica oleracea*. *ACS Omega*, 3(5), 5237–5243. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00242>
- Song, L., Jin, J., & He, J. (2019). Effects of severe water stress on maize growth processes in the field. *Sustainability (Switzerland)*, 11(18). <https://doi.org/10.3390/su11185086>
- Soto Mooner, A. L., Ráez Guevara, L. R., Robles Calderón, R. (2013). El maíz morado como materia prima industrial. *Industrial Data*, 16(1), 85–91. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81629469010>
- Toscano, S., Trivellini, A., Cocetta, G., Bulgari, R., Francini, A., Romano, D., & Ferrante, A. (2019). Effect of Preharvest Abiotic Stresses on the Accumulation of Bioactive Compounds in Horticultural Produce. *Frontiers in Plant Science*, 10(October), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01212>
- Ureta, C., González, E. J., Espinosa, A., Trueba, A., Piñeyro-Nelson, A., & Álvarez-Buylla, E. R. (2020). Maize yield in Mexico under climate change. *Agricultural Systems*, 177(2020), 102697. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102697>
- Vazquez-Olivo, G., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L., & Heredia, J. B. (2019). Antioxidant Capacity of Lignin and Phenolic Compounds from Corn Stover. *Waste and Biomass Valorization*, 10(1), 95–102. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0028-5>
- Villalobos-González, A., López-Castañeda, C., Miranda-Colín, S., Aguilar-Rincón, V. H., & López-Hernández, M. B. (2017). Relaciones hídricas en maíces de

- Valles Altos de la Mesa Central de México en condiciones de sequía y fertilización nitrogenada. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(7), 1651. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i7.157>
- Wang, B., Li, Z., Ran, Q., Li, P., Peng, Z., & Zhang, J. (2018). ZmNF-YB16 overexpression improves drought resistance and yield by enhancing photosynthesis and the antioxidant capacity of maize plants. *Frontiers in Plant Science*, 9(May), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00709>
- Wang, J., Yuan, B., & Huang, B. (2019). Differential heat-induced changes in phenolic acids associated with genotypic variations in heat tolerance for hard fescue. *Crop Science*, 59(2), 667–674. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.01.0063>
- Weiber, E., Bleiholder, H., Buhr, L., Feller, C., Hack, H., Hess, M., ... Van den Boom, T. (1998). *Compendio para la identificación de los estadios fenológicos de especies mono- y dicotiledóneas cultivadas: Escala BBCH extendida*.
- West, D. W., Hoffman, G. J., & Fisher, M. J. (1986). Photosynthesis, leaf conductance, and water relations of cowpea under saline conditions. *Irrigation Science*, 7(3), 183–193. <https://doi.org/10.1007/BF00344073>
- Xu, Q., Ma, X., Lv, T., Bai, M., Wang, Z., & Niu, J. (2020). Effects of water stress on fluorescence parameters and photosynthetic characteristics of drip irrigation in rice. *Water (Switzerland)*, 12(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/w12010289>
- Xue-jun, C., Guang-cai, C., Qun, S., Dong-bin, W., Jing, C., Ya-xiong, Y., ... Wei, L. (2013). Altitude effects on maize growth period and quality traits. *Acta Ecologica Sinica*, 33(4), 233–236. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2013.05.002>
- Yin, X., Sun, Z., Struik, P. C., & Gu, J. (2011). Evaluating a new method to estimate the rate of leaf respiration in the light by analysis of combined gas exchange and chlorophyll fluorescence measurements. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3489–3499. <https://doi.org/10.1093/jxb/err038>
- Zhang, L., Zhang, H., Guo, W., Tian, Y., Chen, Z., & Wei, X. (2012). Photosynthetic responses of energy plant maize under cadmium contamination stress. *Advanced Materials Research*, 356–360(October), 283–286. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.356-360.283>
- Zhang, T. J., Zheng, J., Yu, Z. C., Huang, X. D., Zhang, Q. L., Tian, X. S., & Peng, C. L. (2018). Functional characteristics of phenolic compounds accumulated in young leaves of two subtropical forest tree species of different successional stages. *Tree Physiology*, 38(10), 1486–1501. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy030>
- Zhu, Q., Yu, S., Zeng, D., Liu, H., Wang, H., Yang, Z., ... Liu, Y. G. (2017). Development of “Purple Endosperm Rice” by Engineering Anthocyanin Biosynthesis in the Endosperm with a High-Efficiency Transgene Stacking System. *Molecular Plant*, 10(7), 918–929. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.05.008>

## 7. CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro 1A. Cuadrados medios (CM) y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 1 en la Unidad Académica Marín.

Variables	Fuentes de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMEror	CV
Alt (cm)	2003.59**	2242.48	419.88	0.0038
AltMaz (cm)	632.78	289.29	400.09	18.49
DFF (días)	93.27**	10.34	11.42	4.17
DFM (días)	19.26*	8.16	5.32	3.01
LE (cm)	63.38**	3.91	15.67	8.05
PMaz (g)	17416.69**	1039.3	1166.2	34.04
LMaz (cm)	127.93*	55.6	39.81	44.33
DiMaz (cm)	74.48**	9.55	8.21	26.03
#Hil	95.17**	11.02	5.16	20.37
#GxH	389.5**	33.33	53.16	30.03
PG (g)	6148.26**	187.25	580.8	32.35
RG (Ton/ha)	24.02**	0.73	2.27	32.35

(\*) P<0.05; (\*\*) P< 0.01.

Cuadro 2A. Comparación de medias de las diferentes fuentes de variación obtenidas para el Experimento 1.

Genotipo	Alt (cm)	AltMaz (cm)	DFF (días)	DFM (días)	LE (cm)	PMaz (g)	LMaz (cm)	DiMaz (cm)	#Hil	#GxH	PG (g)	RG (Ton/ha)
NC	273.83 a	122	84 bc	77.67 ab	54.33 ab	100.08 bcd	14.92 ab	13.22 a	14 abc	27.17 ab	77.29 bc	4.83 bc
RM	260.83 abcd	129.83	79 c	74.33 ab	50 ab	102.33 bcd	20.93 a	13.56 a	13 abcd	25.11 ab	84.78 bc	5.3 bc
RO	256.57 abcd	108.83	77 c	74.33 ab	49.33 ab	86.78 bcd	21.17 a	12.44 ab	11.67 bcd	25.11 ab	69 bc	4.31 bc
MM	270.17 ab	116.17	91.33 b	80.33 a	58.83 a	35.02 cd	5.67 b	4.43 b	3.33 e	10 b	18.26 c	1.14 c
AT	236.41 abcd	105	80.33 bc	76 ab	49.5 ab	101.56 bcd	13.98 ab	14.11a	14.44 abc	27.89 ab	82.06 bc	5.13 bc
AL	258.91 abcd	113.35	103.93 a	80.33 a	51.33 ab	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
AND	252.91 abcd	122.83	83.67 bc	79.33 ab	46.17 b	100.22 bcd	14.68 ab	13.58 a	11.67 bcd	29 ab	84.56 bc	5.28 bc
ATe	262.74 abc	114.17	80 c	75.67 ab	54.17 ab	64.17 bcd	12.82 ab	7.92 ab	7 de	16.17 ab	50.17 bc	3.14 bc
Pe	226.8 bcd	127.83	78 c	75 ab	46.67 b	145.22 b	17.32 ab	14.79 a	14.67 abc	35 a	120.67 ab	7.54 ab
CC	256.47 abcd	106	78 c	74.67 ab	53.33 ab	80.05 bcd	16.33 ab	13.24 a	11 cd	23.11 ab	75.11 bc	4.69 bc
CZ	225.47 cd	99.33	80.33 bc	78 ab	43.33 b	114.44 bc	15.74 ab	13.8 a	10.67 cd	30.11 ab	98.56 ab	6.16 ab
RN	237.47 abcd	86.67	84.93 bc	79 ab	46.17 b	78 bcd	14.82 ab	11.4 ab	18.5 ab	32 ab	59 bc	3.69 bc
RC	229.97 bcd	101.5	83 bc	78 ab	44.67 b	91.17 bcd	16.62 ab	11.01 ab	18.78 a	36.22 a	70.06 bc	0.87 c
As	217.11 d	85.43	73.73 c	72.98 b	43.24 b	305.06 a	20.97 a	16.12 a	13.89 abcd	35.57 a	171.45 a	10.72 a
Pi	241.67 abcd	86.5	75 c	73 b	48.25 ab	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). Alt=Altura; AltMaz=Altura de mazorca; DFF=Días a floración femenina; DFM= Días a floración masculina; LE= Longitud de espiga; PMaz= Peso de mazorca; LMaz= Longitud de mazorca; DiMaz= Diámetro de mazorca; #Hil= Numero de hileras; #GxH= Numero de granos por hileras; PG= Peso de grano; RG=Rendimiento de grano.

Cuadro 3A. Cuadrados medios y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 2 de la Unidad Académica Marín.

Variables Fenotípicas	Fuentes de variación			
	CM Genotipo	CM Bloques	CM Error	CV
Alt (cm)	320.79	439.35	149.35	5.03
AltMaz (cm)	1119.72*	9.76	207.55	13.26
DFF (días)	65.52*	14	16.92	5.17
DFM (días)	22.24**	0.77	2.69	2.16
LE (cm)	51.4*	9.21	7.98	6.31
PMaz (g)	24131.81**	346.58	1494.33	38.45
LMaz (cm)	262.39	386.71	280.45	116
DiMaz (cm)	127.66**	5.86	17.76	41.78
#Hil	102*	5.08	14.52	41.76
#GxH	714.81**	23.67	89.28	40.97
PG (g)	9776.78**	20.7	890.49	40.07
RG (Ton/ha)	38.19**	0.08	3.48	40.07

(\*)  $P < 0.05$ ; (\*\*)  $P < 0.01$ . Alt=Altura; AltMz=Altura de mazorca; DFF=Días a floración femenina; DFM= Días a floración masculina; LE= Longitud de espiga; PMaz= Peso de mazorca; LMaz= Longitud de mazorca; DiMaz= Diámetro de mazorca; #Hil= Numero de hileras; #GxH= Numero de granos por hileras; PG= Peso de grano; RG=Rendimiento de grano.

Cuadro 4A. Comparación de medias de las diferentes fuentes de variación obtenidas para el Experimento 2 de la Unidad Académica Marín.

Genotipo	Alt (cm)	AltMaz (cm)	DFF (días)	DFM (días)	LE (cm)	PMaz (g)	LMaz (cm)	DiMaz (cm)	#Hil	#GxH	PG (g)	RG (Ton/ha)
As	218.5	81.75 b	74 b	73 b	41.25 bc	306.83 a	21.8	17.6 a	14 a	36 a	175.17 a	10.95 a
Pi	239.14	84.45 b	74.56 b	72.91 b	47.3 abc	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
AS	252	114.83 ab	84.35 ab	76.33 b	49.67 ab	89.33 b	15.69	13.2 ab	11.78 ab	19.25 b	72.56 b	4.53 ab
AV	250.89	106.41 ab	83.56 ab	77.34 b	47.02 abc	79.74 b	25.19	9.25 b	8.31 b	25.89 ab	54.44 b	3.4 b
AM	240.5	107.5 ab	89 a	84 a	50.5 a	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
BH	243.33	129.33 a	81.33 ab	76.33 b	40.17 c	128.94 b	15.68	13.78 ab	13.11 ab	35.89 a	106.61 ab	6.66 ab
ASL	246.67	115.83 ab	76.67 ab	74.67 b	42.83 abc	122.22 b	14.73	13.14 ab	12.11 ab	31.22 ab	102.78 b	6.42 ab

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). Alt=Altura; AltMaz=Altura se mazorca; DFF=Días a floración femenina; DFM= Días a floración masculina; LE= Longitud de espiga; PMaz= Peso de mazorca; LMaz= Longitud de mazorca; DiMaz= Diámetro de mazorca; #Hil= Numero de hileras; #GxH= Numero de granos por hileras; PG= Peso de grano; RG=Rendimiento de grano.

Cuadro 5A. Cuadrados medios y coeficientes de variación de variables agronómicas evaluadas en el Experimento 3.

Variables fenotípicas	Fuentes de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMEError	CV
Alt (cm)	1284.65**	400.08	250.93	6.42
AltMaz (cm)	1743.35**	783.86	212.8	13.03
DFF (días)	152.06**	23.09	16.35	4.87
DFM (días)	19.59**	1.23	2.2	1.94
LE (cm)	29.91**	22.31	4	4.75
PMaz (g)	21566.72**	1510.57	726.02	36.33
LMaz (cm)	146.28**	32.22	26.71	53.76
DiMaz (cm)	83.28*	15.29	18.49	57.57
#Hil	84.63*	29.95	22.48	60.17
#GxH	518.23**	182.36	68.44	48.59
PG (g)	7338.49**	994.67	507	44.32
RG (Ton/ha)	28.67**	3.89	1.98	44.32

(\*)  $P < 0.05$ ; (\*\*)  $P < 0.01$ . Alt=Altura; AltMz=Altura de mazorca; DFF=Días a floración femenina; DFM= Días a floración masculina; LE= Longitud de espiga; PMaz= Peso de mazorca; LMaz= Longitud de mazorca; DiMaz= Diámetro de mazorca; #Hil= Numero de hileras; #GxH= Numero de granos por hileras; PG= Peso de grano; RG=Rendimiento de grano.

Cuadro 6A. Comparación de medias para las diferentes variables fenotípicas obtenidas para el Experimento 3, Maíces nativos de Nuevo León.

Genotipo	Alt (cm)	AltMaz (cm)	DFF (días)	DFM (días)	LE (cm)	PMaz (g)	LMaz (cm)	DiMaz (cm)	#Hil	#GxH	PG (g)	RG (Ton/ha)
As	221.33 b	84.5 bc	73.33 e	73 b	50 a	300.37 a	20.67 a	13.87 ab	14	34.67 a	164.02 a	10.25 a
Pi	233.67 ab	87.33 bc	73.67 e	73 b	45.17 ab	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
NP	252.5 ab	123 abc	82 bcde	76 bc	43.5 abc	173.79 b	16.5 ab	15.5 a	12	35 a	100.6 ab	6.29 ab
RRC	277.33 a	143.67 a	96.4 a	76.33 bc	37.33 c	28.17 d	8.97 b	6.87 b	7.11	12.61 b	20.72 b	1.3 b
MR	218.83 b	91.33 bc	N/D	77.33 bc	41.5 bc	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
MJM	271.5 ab	135.67 ab	87.67bcde	76 bc	40.67 bc	96.5 bcd	16.8 ab	12.38 ab	13.6	28.5 ab	74 b	4.63 b
Am	220.33 b	81.5 bc	79.33 cde	75.33 bc	43.17 abc	121.61 bcd	16.9 ab	13.82 ab	14.1	36.78 a	99.89 ab	6.24 ab
MS	231.5 ab	103.5 abc	95 bc	87 a	39.5 bc	129.5 bc	15.3 ab	13.05 ab	11	29.5 a	107.5 ab	6.72 ab
PP	265.5 ab	150.67 a	91.62 bcd	78.33 b	39.5 bc	39.33 cd	8.25 b	7.57 b	9	13.33 b	30 b	1.88 b
MPN	256.5 ab	108.33abc	80.33 cde	77.67 bc	41.67 bc	55.17 cd	10.57 b	7.97 b	9.67	18.67 ab	43.83 b	2.74 b
MS	264.5 ab	133 ab	91.48bcde	78 bc	41.17 bc	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
MA	242.5 ab	102.33abc	77.9 de	75.33 bc	41.17 bc	48.89 cd	9.61 b	7.68 b	8.89	15.56 a	40.11 b	2.51 b

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). Alt=Altura; AltMaz=Altura de mazorca; DFF=Días a floración femenina; DFM= Días a floración masculina; LE= Longitud de espiga; PMaz= Peso de mazorca; LMaz= Longitud de mazorca; DiMaz= Diámetro de mazorca; #Hil= Numero de hileras; #GxH= Numero de granos por hileras; PG= Peso de grano; RG=Rendimiento de grano.

Cuadro 7A. Cuadrados medios y coeficiente de variación para los compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 1.

	Fuente de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMError	CV
ATAnV (mg EqC3G·100g <sup>-1</sup> )	153.45**	0.7	1.88	47.98
CFTAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	14112.5**	5187.23	1722.38	15.68
CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	8237.51**	6508.72	1780.54	8.34
CIdRAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	30652.17**	1593.87	5782.31	19.11
CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	68380.01**	14427.92	6958.53	12.38
CFTAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	3390.33**	799.67	399.1	16.06
CFTPoAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	1956.63	238.84	1319.29	12.26
CIdRAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	3294.35	1400.55	4472.46	66.34
CIdRPoAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	9636.01	5803.38	8499.44	46.42

(\*) P<0.05; (\*\*) P< 0.01. ATAnV= Antocianinas totales en etapa antesis en vaina; CFTAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CFTPoAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CIdRAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CIdRPoAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CFTAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en vaina; CFTPoAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa postantesis en vaina; CIdRAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina; CIdRPoAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina.

Cuadro 8A. Cuadrados medios y coeficientes de variación obtenidos para las variables de compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 2.

Variables	Fuentes de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMError	CV
CFTAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	13061.54**	133.39	1001.33	11.06
CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	24249.58**	362.63	976.17	7.59
CIdRAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	19820.82	25744.6	11383.8	28.72
CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	114772.92**	3081.76	14137	17.7
CFTAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	2394.71**	1549.6	218.2	11.92
CFTPoAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	5023.54	2815.13	2833.5	17.16
CIdRAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	3437.21	3055.8	4097.73	69.22
CIdRPoAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	12671.24**	1787.72	1374.6	18.46

(\*) P<0.05; (\*\*) P< 0.01. CFTAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CFTPoAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CIdRAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CIdRPoAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CFTAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en vaina; CFTPoAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa postantesis en vaina; CIdRAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina; CIdRPoAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina.

Cuadro 9A. Cuadrados medios y coeficientes de variación obtenidos para las variables de compuestos bioactivos en tejido foliar del Experimento 3.

Variables	Fuentes de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMError	CV
CFTAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	13061.54**	133.39	1001.33	11.06
CFTPoAnH (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	24249.58**	362.63	976.17	7.59
CIdRAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	19820.82	25744.6	11383.8	28.72
CIdRPoAnH (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	114772.92**	3081.76	14137	17.7
CFTAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	2394.71**	1549.6	218.2	11.92
CFTPoAnV (mg EAG·100g <sup>-1</sup> )	5023.54	2815.13	2833.5	17.16
CIdRAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	3437.21	3055.8	4097.73	69.22
CIdRPoAnV (μmol EqT·g <sup>-1</sup> )	12671.24**	1787.72	1374.6	18.46

(\*) P<0.05; (\*\*) P< 0.01. CFTAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CFTPoAnH= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en hoja; CIdRAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CIdRPoAnH= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en hoja; CFTAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa antesis en vaina; CFTPoAnV= Compuestos fenólicos totales en etapa postantesis en vaina; CIdRAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina; CIdRPoAnV= Capacidad inhibitoria de radicales en etapa antesis en vaina.

Cuadro 10A. Cuadrados medios y coeficientes de variación para las variables obtenidas de compuestos bioactivos en grano de la Unidad Académica Marín.

Variables	Fuente de variación			
	CMGenotipo	CMBloques	CMError	CV
Cianianidin-3-Glucosido	1176.9**	2.34	7.81	25.75
Pelargonidina-3-Glucosido	83.33**	3.7	5.16	70.92
Peonidina-3-Glucosido	12.26*	0.99	0.94	79.92
Luteína	0.15	0.09	0.08	67.29
Zeaxantina	0.67	0.46	0.4	66.66
ProVitA	1.05*	0.43	0.09	20.43

(\*) P<0.05; (\*\*) P< 0.01.

Cuadro 11A. Cuadrados medios obtenidos para cada una de las fuentes de variación fenotípicas.

Variables	Fuentes de variación							CV
	CMG	CMT	CMT*G	CMH	CMH*G	CMT*H	CMG*T*H	
DFE (Días)	68.51**	1.18	7.72	510.8**	5.6	1.93	2.74	1.9
DFM (Días)	9.35**	0.21	3.43	230.68**	0.88	1.48	0.61	2.4
Alt (cm)	2994.4**	4123.22*	567.86	26743.52**	326.85	2523.5*	162.52	16.11
AltMaz (cm)	641.92**	756.02	53.17	3699.05**	37.64	838.31*	96.55	17.22
PMaz (g)	3207.65**	2298.4	272.29	23068.37**	48.32	682.26	458.14	82.07

Donde CMG: Cuadrado medio de genotipos; CMT: Cuadrado medio de temperatura; CMT\*G: Cuadrado medio de interacción temperatura por genotipo; CMH: Cuadrado medio de humedad; CMH\*G: Cuadrado medio de interacción humedad por genotipo; CMT\*H: Cuadrado medio de interacción temperatura por humedad; CMG\*T\*H: Cuadrado medio de genotipo por temperatura por humedad; CV: Coeficientes de variación.

Cuadro 12A. Cuadrados medios presentes en las diferentes variables medidas por el porómetro de estado constante Li-1600 en el experimento sequía y altas temperaturas.

Variables	Fuentes de variación							
	CMG	CMT	CMT*G	CMH	CMH*G	CMT*H	CMG*T*H	CV
LeafTemp (°C)	0.08	163.22**	1.5	34.88**	0.04	9.42**	0.49	2.27
Trans ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	7.74	23.69*	6.65	103.91**	1.65	6.25	6.59	65.14
LeafTemp2 (°C)	0.95	1525.72**	2.13	128.28**	1.68	0.99	2.36	2.85
Trans2 ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	0.0033	7.14**	0.0017	16.79**	0.01	14.25**	0.0033	9.61

(\*)  $P < 0.05$ ; (\*\*)  $P < 0.01$ . Donde CMG: Cuadrado medio de genotipos; CMT: Cuadrado medio de temperatura; CMT\*G: Cuadrado medio de interacción temperatura por genotipo; CMH: Cuadrado medio de humedad; CMH\*G: Cuadrado medio de interacción humedad por genotipo; CMT\*H: Cuadrado medio de interacción temperatura por humedad; CMG\*T\*H: Cuadrado medio de genotipo por temperatura por humedad; CV: Coeficientes de variación.

Cuadro 13A. Cuadrados medios presentes en las diferentes variables medidas por el medidor portátil de fotosíntesis Li-6400 en el experimento sequía y altas temperaturas.

Variables	Fuentes de variación							CV
	CMG	CMT	CMT*G	CMH	CMH*G	CMT*H	CMG*T*H	
Trans (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	0.0033	7.14**	0.0017	16.79**	0.01	14.25**	0.0033	9.61
Cond(mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	0.02	0.08*	0.01	0.46**	0.01	0.00046	0.0037	0.02
Photo (μMol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	17.74	0.08	8.83	6319.83**	20.56*	0.34	10.33	155.07
Ci (μMol CO <sub>2</sub> Mol <sup>-1</sup> )	492.47	23802.67*	1756.74	476520.92**	1239.52	7836.13	1325.3	11.02
Fv/Fm (MA)	0.0027	0.00005	0.0015	0.31**	0.0015	0.001	0.0027	6.39

(\*)P<0.05; (\*\*) P<0.01. Donde CMG: Cuadrado medio de genotipos; CMT: Cuadrado medio de temperatura; CMT\*G: Cuadrado medio de interacción temperatura por genotipo; CMH: Cuadrado medio de humedad; CMH\*G: Cuadrado medio de interacción humedad por genotipo; CMT\*H: Cuadrado medio de interacción temperatura por humedad; CMG\*T\*H: Cuadrado medio de genotipo por temperatura por humedad; CV: Coeficientes de variación; (MA): Magnitud Adimensional.

Cuadro 14A. Cuadrados medios presentes en las variables cuantificadas para determinar compuestos bioactivos en el experimento con sequía y altas temperaturas.

Variables	Fuentes de variación							CV
	CMG	CMT	CMT*G	CMH	CMH*G	CMT*H	CMG*T*H	
Folin-Ciocalteu (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )	1640.54**	7506.28**	431.87	4344.86**	312.83	5100.01**	546.91**	12.04
DPPH· (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )	2931.8**	1424.34*	697.16	988.43*	635.35*	6616.36**	1265.86**	21.21
ABTS <sup>+</sup> (mg·EqT·100g <sup>-1</sup> )	867	13013.6**	1327.5	8532.03*	1409.54	2639.89	1158.15	19.91

(\*) P<0.05; (\*\*) P<0.01. Donde CMG: Cuadrado medio de genotipos; CMT: Cuadrado medio de temperatura; CMT\*G: Cuadrado medio de interacción temperatura por genotipo; CMH: Cuadrado medio de humedad; CMH\*G: Cuadrado medio de interacción humedad por genotipo; CMT\*H: Cuadrado medio de interacción temperatura por humedad; CMG\*T\*H: Cuadrado medio de genotipo por temperatura por humedad; CV: Coeficientes de variación; (MA): Magnitud Adimensional.

Cuadro 15A. Comparación de medias para los resultados de la prueba de Folin-Ciocalteu y de la prueba de DPPH\* en la doble interacción, temperatura X genotipo X humedad.

Triple interacción	□ Folin-Ciocalteu (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )	□ DPPH* (mg·EAG·100g <sup>-1</sup> )
TI R RO	53.96 a	37.42 abcd
TA S RO	54.98 ab	47.35 abcde
TI R AND	60.6 abc	52.37 bcde
TA S RM	67.29 abc	70.34 bcdefg
TI S RO	69.81 abc	44 abcd
TI R RM	70.45 abc	43.57 abcd
TA S AND	73.17 abc	64.28 bcdef
TI S AND	75.08 abc	107.34 g
TI S RM	75.24 abc	69.23 bcdefg
TI R RC	80.26 abcd	66.29 bcdefg
TI S As	82.66 abcd	65.85 bcdefg
TI S RC	84.36 abcd	19.35 a
TA S As	88.44 abcde	29.98 ab
TI R As	90.55 bcde	74.39 cdefg
TA R AND	101.17 cdef	28.74 ab
TA R As	102.52 cdef	47.35 abcde
TA R RO	115.42 def	86.47 efg
TA S RC	115.44 def	32.46 abc
TA R RM	123.39 ef	46.85 abcde
TA R RC	133.56 f	98.68 fg

Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Cuadro 16A. Correlación entre compuestos fenólicos totales por Folin-Ciocalteu y DPPH.

	CFT Folin-Ciocalteu	CIdRDPPH
CFT Folin-Ciocalteu	1	
CIdRDPPH	0.37**	1

Cuadro 17A. Cuadrados medios para las fuentes de variación del experimento postantesis con tratamiento de calor inducido.

Variables	Fuentes de variación			
	CMG	CMT	CMT*G	CV
Folin-Ciocalteu	105.75	2843.63**	334.44	17.62
DPPH·	511.28	8226.36**	786.8	33.43
ABTS <sup>+</sup>	4361.52	51494.78**	1511.27	15.15

(\*) P<0.05; (\*\*) P<0.01.